

PCT

ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIETE INTELLECTUELLE
Bureau international

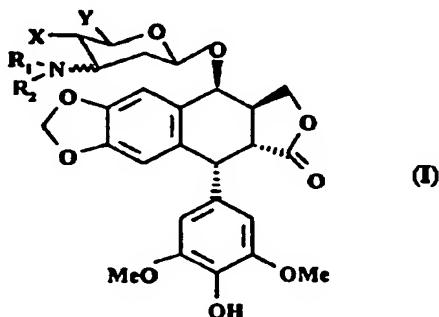


DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : C07H 17/04, A61K 31/70		A2	(11) Numéro de publication internationale: WO 97/13776 (43) Date de publication internationale: 17 avril 1997 (17.04.97)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR96/01588 (22) Date de dépôt international: 11 octobre 1996 (11.10.96)		(81) Etats désignés: AU, BR, CA, CN, JP, KR, MX, NZ, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Publiée <i>Sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport.</i>	
(30) Données relatives à la priorité: 95/11978 12 octobre 1995 (12.10.95) FR			
(71) Déposant (<i>pour tous les Etats désignés sauf US</i>): PIERRE FABRE MEDICAMENT [FR/FR]; 45, place Gance, F-92100 Boulogne-Billancourt (FR).			
(72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (<i>US seulement</i>): MONNERET, Claude [FR/FR]; 9, avenue Lamoricière, F-75012 Paris (FR). DALEY, Laurent [FR/FR]; 21, rue Brézin, F-75014 Paris (FR). GUMINSKI, Yves [FR/FR]; 17, rue Jacques-Prévert, F-81090 Lagarrigue (FR). IMBERT, Thierry [FR/FR]; 16, route de Saix, F-81290 Viviers-les-Montagnes (FR). HILL, Bridget [GB/FR]; 10, rue Malbec, F-81100 Castres (FR).			
(74) Mandataires: MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet Régimbeau, 26, Avenue Kleber, F-75116 Paris (FR).			

(54) Title: NOVEL AMINE DERIVATIVES OF EPIPODOPHYLLOTOXIN 2", 3"-DIDEOXYGLYCOSIDES, PREPARATION METHOD THEREFOR AND USE THEREOF AS A DRUG AND FOR TREATING CANCER

(54) Titre: NOUVEAUX DERIVES AMINES DE 2", 3" DIDESOXIGLYCOSIDES D'EPIPODOPHYLLOTOXINE, LEUR PROCEDE DE PREPARATION, LEUR UTILISATION COMME MEDICAMENT ET LEUR UTILISATION DESTINEE AUX TRAITEMENTS ANTICANCEREUX



(57) Abstract

A compound of general formula (I), wherein X, Y, R₁ and R₂ are as defined in the description, a preparation method therefor and the use thereof as a drug and for treating cancer, are disclosed.

(57) Abrégé

L'invention concerne un composé de formule générale (I), X, Y, R₁ et R₂ étant définis dans la description, leur procédé de préparation, leur utilisation comme médicament et leur utilisation destinée aux traitements anticancéreux.

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publient des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Arménie	GB	Royaume-Uni	MW	Malawi
AT	Autriche	GE	Géorgie	MX	Mexique
AU	Australie	GN	Guinée	NE	Niger
BB	Barbade	GR	Grèce	NL	Pays-Bas
BE	Belgique	HU	Hongrie	NO	Norvège
BF	Burkina Faso	IE	Irlande	NZ	Nouvelle-Zélande
BG	Bulgarie	IT	Italie	PL	Pologne
BJ	Bénin	JP	Japon	PT	Portugal
BR	Brésil	KE	Kenya	RO	Roumanie
BY	Biélorussie	KG	Kirghizistan	RU	Fédération de Russie
CA	Canada	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CF	République centrafricaine	KR	République de Corée	SE	Suède
CG	Congo	KZ	Kazakhstan	SG	Singapour
CH	Suisse	LJ	Liechtenstein	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SK	Slovaquie
CM	Cameroon	LR	Libéria	SN	Sénégal
CN	Chine	LT	Lituanie	SZ	Swaziland
CS	Tchécoslovaquie	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CZ	République tchèque	LV	Lettonie	TG	Togo
DE	Allemagne	MC	Monaco	TJ	Tadjikistan
DK	Danemark	MD	République de Moldova	TT	Trinité-et-Tobago
EE	Estonie	MG	Madagascar	UA	Ukraine
ES	Espagne	ML	Mali	UG	Ouganda
FI	Finlande	MN	Mongolie	US	Etats-Unis d'Amérique
FR	France	MR	Mauritanie	UZ	Ouzbékistan
GA	Gabon			VN	Viet Nam

**Nouveaux dérivés aminés de 2",3" didésoxyglycosides d'épipodophyllotoxine,
leur procédé de préparation, leur utilisation comme médicament
et leur utilisation destinée aux traitements anticancéreux.**

La présente invention concerne des nouveaux dérivés d'amino 2",3" didésoxyglycosides d'épipodophyllotoxine, leur procédé de préparation, leur utilisation comme médicament et leur utilisation destinée aux traitements anticancéreux.

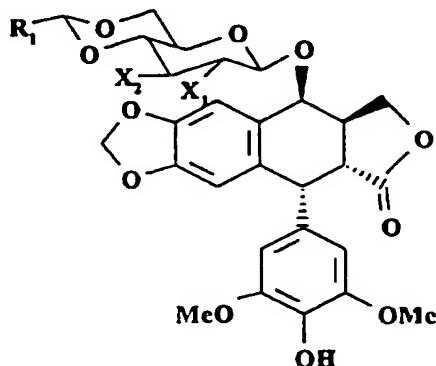
Parmi les dérivés issus de lignanes naturels, il existe la classe des épipodophylloïdes, ayant le squelette de base de la podophyllotoxine. Y figurent les dérivés hémisynthétiques tels que l'Etoposide ou le Téniposide lesquels sont utilisés de façon usuelle dans la préparation de médicaments pour le traitement du cancer. Ils sont considérés comme des produits majeurs dans ce domaine.

L'Etoposide possède des propriétés antitumorales et permet de traiter en particulier le cancer du poumon à petites cellules et le cancer des testicules.

L'inconvénient de ces produits est leur manque d'hydrosolubilité et rencontrent par conséquent des difficultés au niveau de la formulation et de l'administration.

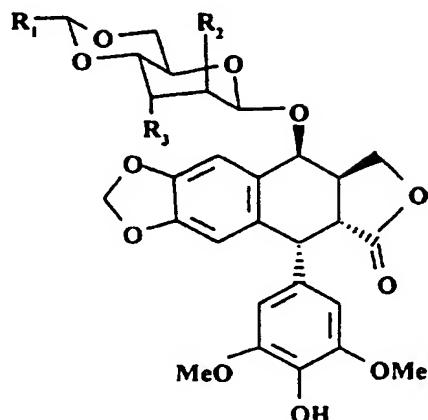
L'objet de la présente invention est de montrer que des dérivés de la 4'-déméthyl épipodophyllotoxine, possédant en position 4, une substitution de structure 2"-désoxyglycoside, permet, par l'incorporation d'un ou plusieurs azotes, de former des composés dont les sels d'addition possèdent une solubilité aqueuse permettant de répondre au problème et montrent l'activité anticancéreuse recherchée.

Le brevet EP-0 196 618 relate des dérivés hydrosolubles de 4'-déméthyl épipodophyllotoxine de formule :



où $R_1 = Me$, $X_1 = NH_2$, NMe_2 , $X_2 = OH$

Le brevet EP-0 415 453 mentionne des dérivés β -D-altrosides de 4'-déméthyl épipodophyllotoxine de formule



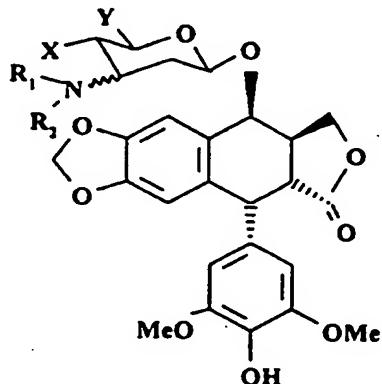
5

où $R_1 = Me$ $R_2, R_3 = OH$ et NH_2 ou F et NH_2 de même que JP 0161, 423.

D'autres publications mentionnent des dérivés analogues (Carbohydr. Res. 1990, 206, 219 ; Chem. Pharm. Bull. 1986, 34, 3733 ; Chem. Pharm. Bull 1986, 34, 3741 ; Chem. Lett. 1987, 799).

- 10 Le fait d'utiliser un glycoside ayant une position 2"-désoxy est tout à fait particulier. Il permet d'obtenir des composés plus lipophiles que les analogues hydroxylés et, par conséquent, avoir un spectre d'activité antitumoral élargi. Cela leur permet d'avoir une meilleure pénétration membranaire et de pouvoir atteindre plus facilement la cible biologique comme, par exemple, les tumeurs solides peu irriguées.
- 15 En outre, l'avantage de posséder une fonction amino par exemple en position 3", confère une possibilité de salification donc d'hydrosolubilité suffisante pour une meilleure formulation et une meilleure administration.

La présente invention concerne donc un composé de formule générale I



I

5 dans laquelle le groupement en 3" N(R₁ R₂) est en position β (série 2-désoxy D Arabino) ou α (série 2-désoxy D ribo) par rapport au cycle, R₁ et R₂ identiques ou différents représentent un atome d'hydrogène, un groupe alkyle de C₁ à C₆, pouvant former un cycle, ce cycle pouvant comporter un hétéroatome comme un oxygène ou un azote, un groupe aminoalkyle en C₁ à C₆ ou cyanométhyle.

10 X et Y peuvent être identiques ou différents et représentent un OH, CH₃, CH₂-NH₂, X et Y peuvent également être liés et constituer un cycle, comme par exemple, un 2-méthyl 1,3 dioxane, formant ainsi un squelette bicyclique osidique de type 4,6-éthylidène 3-amino-2,3-didésoxy- β -D arabino ou ribo-hexo pyranoside.

15 Elle concerne également leurs sels d'addition avec des acides minéraux ou organiques salifiant le ou les atomes d'azote, en particulier les chlorhydrates.

D'une manière avantageuse, le groupe NR₁R₂ est un groupement NH₂ ou N(CH₃)₂.

Le groupe NR₁R₂ peut également être un groupe amino substitué une ou deux fois par un méthyl, CH₂CN, CH₂-CH₂-NH₂, former un cycle comme la morpholine.

20 De manière avantageuse, les composés de formule générale I seront choisis avec un glycoside pour lequel X et Y forment un cycle avec un enchaînement OCH(CH₃)OCH₂, tel qu'un 4,6 éthylidène-3-amino-2,3-didésoxy- β -D arabino-hexo pyranoside ou bien 4,6 éthylidène-3-amino-2,3-didésoxy- β -D-ribo-hexopyranoside.

En particulier, les composés selon l'invention sont sélectionnés parmi les composés suivants :

- 4'-Déméthyl-4-O(3-amino-4,6-éthylidène-2,3-didésoxy- β -D-arabinohexopyranosyl) épipodophyllotoxine,
- 5 • 4'-Déméthyl-4-O(3-amino-4,6-éthylidène-2,3-didésoxy- β -D-ribohexopyranosyl) épipodophyllotoxine,
- 4'-Déméthyl-4-O(3-diméthylamino-4,6-éthylidène-2,3-didésoxy- β -D-arabinohexo-10 pyranosyl) épipodophyllotoxine,
- 4'-Déméthyl-4-O(3-diméthylamino-4,6-éthylidène-2,3-didésoxy- β -D-ribohexo- pyranosyl) épipodophyllotoxine,
- 15 • 4'-Déméthyl-4-O(3-cyanométhylamino-4,6-éthylidène-2,3-didésoxy- β -D-ribohexo- pyranosyl) épipodophyllotoxine,
- 4'-Déméthyl-4-O(3-(N-morpholino)-4,6-éthylidène-2,3-didésoxy- β -D-ribohexo- pyranosyl) épipodophyllotoxine,
- 15 • 4'-Déméthyl-4-O[3(2-aminoéthylamino)-4,6-éthylidène-2,3-didésoxy- β -D-ribohexo- pyranosyl] épipodophyllotoxine,
- 4'-Déméthyl-4-O(3-amino-2,3,6-tridésoxy- β -D-ribohexopyranosyl) épipodophyllotoxine,
- 20 • 4'-Déméthyl-4-O(3,6-diamino-2,3,6-tridésoxy- β -D-ribohexopyranosyl) épipodophyllotoxine.

La présente invention concerne aussi les compositions pharmaceutiques comprenant au moins un composé de formule générale I selon l'invention et un excipient approprié.

Les compositions pharmaceutiques peuvent être présentées de façon adaptée par l'administration par voie injectable ou par voie orale sous forme de capsule, de gélules, de comprimés à la posologie de 1 à 200 mg/m² par voie injectable et de 5 à 500 mg/m² par voie orale par période de 24 h.

Ces dérivés peuvent ainsi être administrés en clinique humaine pour traiter différentes formes de cancer tels le cancer du poumon à petites cellules, le cancer des testicules, les tumeurs embryonnaires, les neuroblastomes, le cancer du rein, les

lyphomes Hodgkiniens et non Hodgkiniens, les leucémies aiguës, les cancers colorectaux, les mélanomes, les choriocarcinomes placentaires et les adénocarcinomes mammaires.

La présente invention est également relative aux procédés de préparation des 5 composés de formule I ainsi que de leurs sels d'addition avec les acides minéraux ou organiques pharmaceutiquement acceptables.

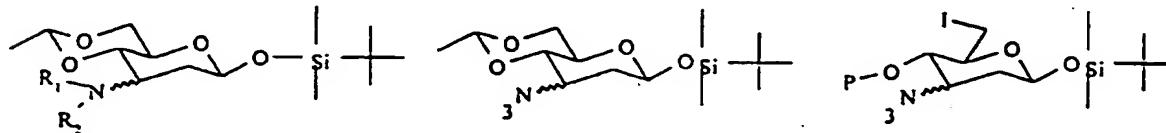
La présente invention concerne donc les procédés de préparation des composés de formule générale I selon l'invention, dans lesquels on fait réagir un composé de formule III ou IV ou V

10

III

IV

V



avec la 4'-Déméthyl 4'-benzyloxycarbonyl épipodophyllotoxine avec l'éthérate de BF_3 , ou le triméthyl silyl trifluorométhanesulfonate dans un solvant inerte à basse température ;

15

dans la formule III et IV, le substituant en position 3 peut être α ou β , NR_1R_2 peut être un amino protégé par un groupe Z,

dans la formule V, P représente un groupe protecteur d'alcool et les produits résultants de cette condensation sont déprotégés et hydrogénés pour fournir les composés de formule I,

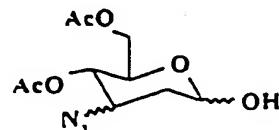
20

les amines primaires en position 3 du glycosyl sont méthylées par le formol et le cyanoborohydride de sodium.

L'intermédiaire de formule IV est préparé en faisant réagir un mélange de diacétoxy azido glycoside VI

25

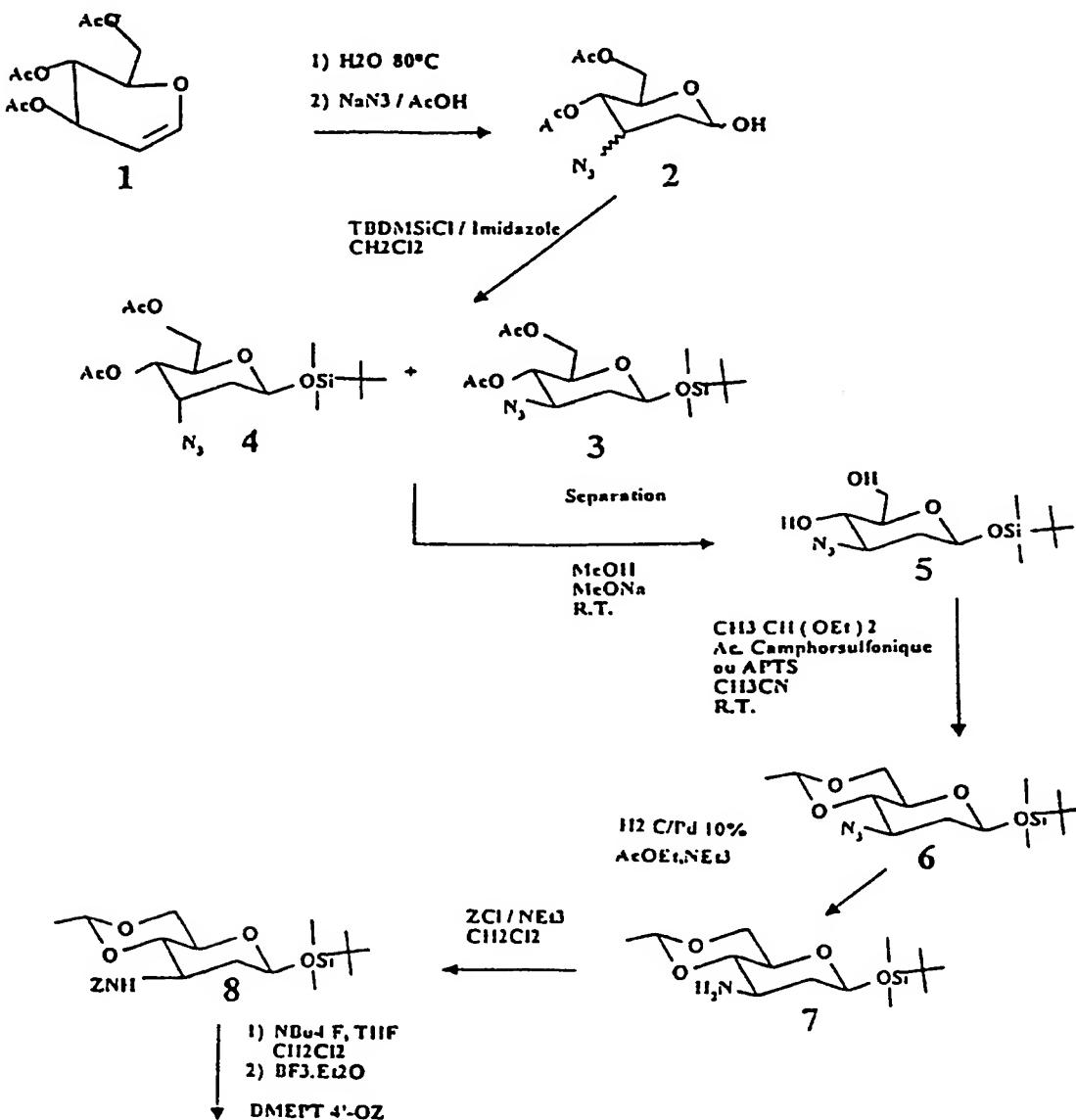
VI



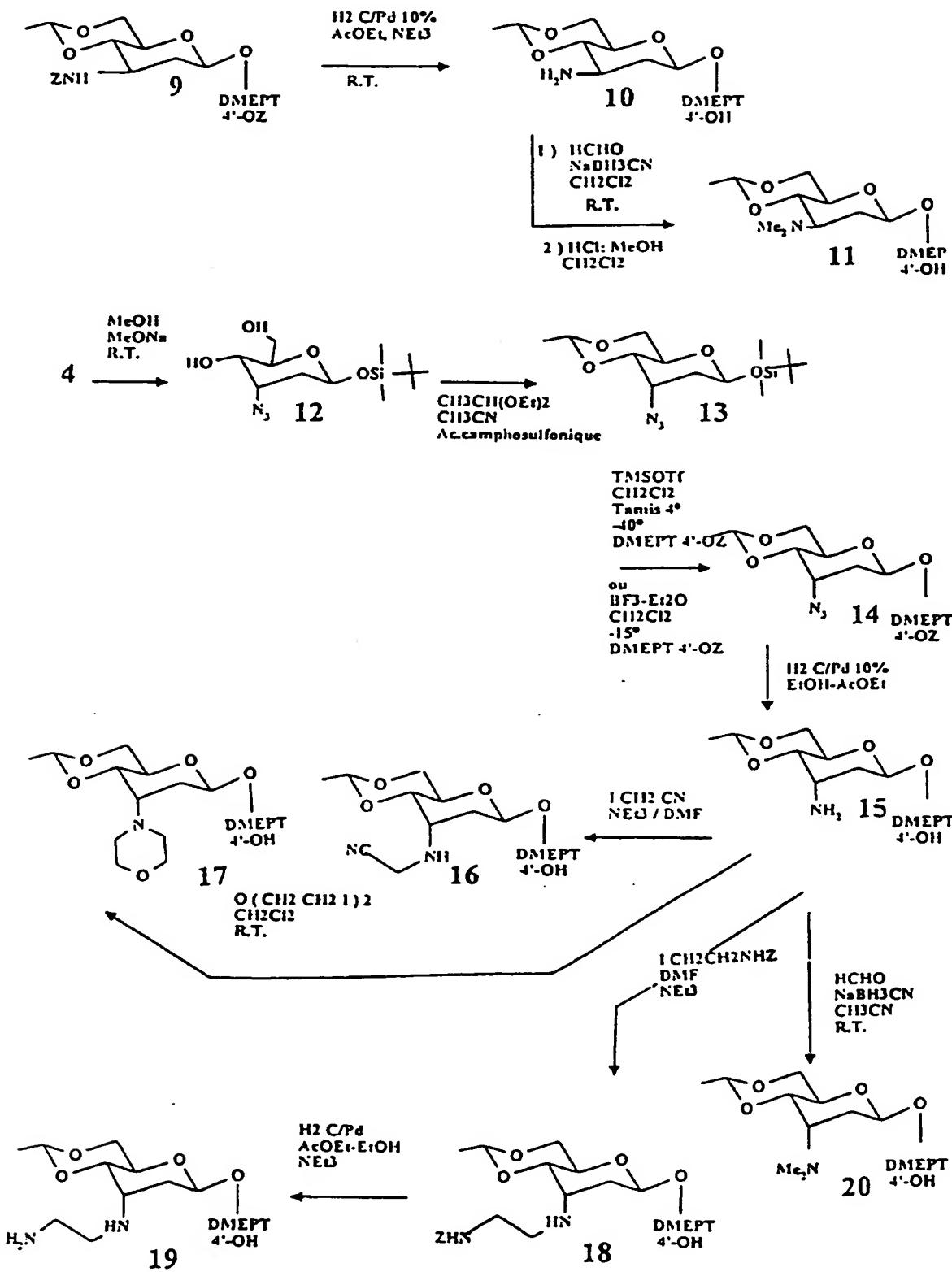
avec le chlorure de tertbutyl diméthylsilyl en présence d'imidazole, en ce que l'on sépare les produits résultant de cette réaction, en ce que chacun de ces produits sont déacétylés, cyclisés en 4,6-éthylidène avec l'acétal de l'acetaldehyde en milieu acide catalytique.

D'autres caractéristiques du procédé selon l'invention apparaîtront à la lumière de la description qui suit, notamment du procédé de synthèse reporté sur le schéma I.

SCHEMA 1



7



Elle se fait selon une méthodologie décrite (J. C. Florent et C. Monneret, J. Chem. Soc. Chem. Comm. 1987, 1171 et B. Abbaci, J. C. Florent et C. Monneret, Bull. Soc. Chim. Fr. 1989, 667) à partir du glucal 1. L'ion azoture est condensé pour fournir un intermédiaire glycosidique 2 dont le OH anomérique est protégé par un groupement silyl exclusivement en position β selon la technique décrite (C. Kolar et G. Kneissl Angew. Chem. Int. Ed 29, 809 (1990)) pour fournir le mélange des 2 azides épimères : 3 et 4 séparables chromatographiquement à ce stade. Par déacétylation basique en présence de méthylate de sodium, les diols en position 4, 6 sont obtenus : composés 5 et 12. Le composé diol azide β 5 est cyclisé en éthylidène classiquement à l'aide de l'acétal de l'acetaldehyde en catalyse acide pour conduire au composé 6 dont l'azide se réduit en amine 7 pour être protégée par un groupement benzyloxycarbonyle (Z) en composé 8, nécessaire pour effectuer le couplage avec la démethyl épipodophyllotoxine, elle-même protégée sur son phénol en 4' par un groupe benzyloxycarbonyle, cet intermédiaire sera appelé DMEPT4'-OZ. Ce couplage s'effectue dans un premier temps par clivage du silyle protecteur par les ions F⁻ suivi du traitement par l'éthérate de BF₃ à basse température dans le même milieu. La déprotection des groupements Z par hydrogénolyse fournit le composé 10 de formule générale I (NR₁R₂ = β NH₂ ; XY = OCH(CH₃)OCH₂). Le composé 11 de formule générale I (NR₁R₂ = β NMe₂ ; XY = OCH(CH₃)OCH₂) s'obtient par méthylation de l'amine primaire précédente par action du formol et du cyanoborohydrure de sodium.

L'intermédiaire glycosidique azide α 12 suit la même suite de réaction que son épimère et fournit de façon identique le dérivé de couplage avec la DMEPT4'OZ à partir de l'azide 3" α 13, dans ce cas le couplage est effectué plus facilement selon deux techniques.

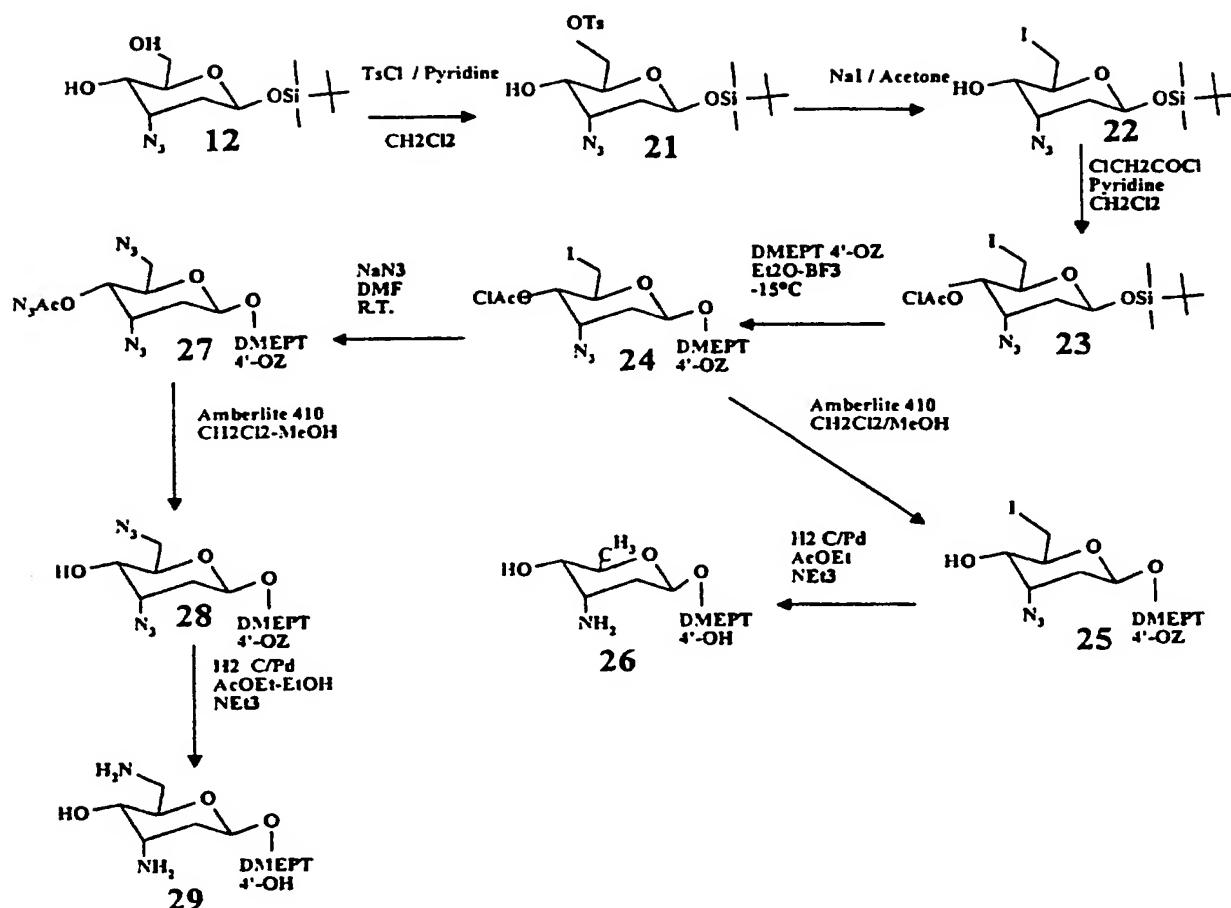
La première technique consiste à traiter le dérivé ribohexopyranoside 13 par le triméthyl silyl trifluorométhane sulfonate (TMSOTf) à - 40°C dans du CH₂Cl₂. La deuxième technique consiste à utiliser l'éthérate de BF₃ dans le CH₂Cl₂ à - 15°C. L'intermédiaire obtenu 14 est alors réduit catalytiquement pour conduire à 15 correspondant à la formule générale I où NR₁R₂ = α NH₂ et XY = OCH(CH₃)OCH₂. La même méthylation que pour le composé β NH₂ 10, par le formol et le

cyanoborohydure conduit au dérivé diméthylamino correspondant : formule générale I ($\text{NR}_1\text{R}_2 = \alpha\text{NMe}_2$; $\text{XY} = \text{OCH}(\text{CH}_3)\text{OCH}_2$). A partir de l'amine primaire 15, il est possible d'alkyler l'azote avec un dérivé halogéné comme l'iodoacetonitrile dans des conditions faiblement basiques avec la triéthylamine dans la DMF et conduire au dérivé 5 16 de formule générale I où $\text{NR}_1\text{R}_2 = \alpha\text{NHCH}_2\text{CN}$; $\text{XY} = \text{OCH}(\text{CH}_3)\text{OCH}_2$. De la même façon, le dérivé 17 s'obtient en formant le cycle morpholine par cyclisation de l'éther diiodé sur le même intermédiaire amine primaire 15. La même alkylation avec la iodoéthylamine protégée par un groupement Z sur le composé 15 fournit le dérivé 18 qui est réduit catalytiquement en 19 dérivé diamino correspondant à la formule générale 10 I avec $\text{NR}_1\text{R}_2 = \alpha\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$; $\text{XY} = \text{OCH}(\text{CH}_3)\text{OCH}_2$.

Les composés de formule I où XY ne forme pas un cycle s'obtiennent de la façon suivante représentés sur le schéma 2 :

10

SCHEMA 2



l'azide α silylé 12 est tosylé sélectivement avec le chlorure de tosyle dans la pyridine en 2, le tosylate de l'alcool primaire est échangé en dérivé iodo 22. A ce stade, l'alcool secondaire en position 4 est protégé par un chloroacétate pour fournir le 2-desoxysucre fonctionnalisé 23 prêt à être condensé avec la DMEPT 4'-OZ dans les conditions usuelles avec l'éthérate de BF_3 dans le chlorure de méthylène à basse température. L'intermédiaire 24 obtenu, permet par passage sur la résine amberlite IRA410 traitée en milieu basique de déprotéger le groupe chloroacétate en composé 25 et l'hydrogénéation catalytique finale permet en une étape de réduire la fonction azide en amino 3" α , de déprotéger la fonction Z en position 4' et de réduire le carbone 6" en méthyle pour fournir le dérivé 26 correspondant à la formule générale I où $\text{NR}_1\text{R}_2 = 3''\alpha\text{NH}_2$; X =

OH ; Y = CH₃. L'intermédiaire 24 obtenu précédemment peut réagir avec l'ion azoture dans la DMF à température ambiante pour fournir le 3"-αN₃, 6"-N₃ comportant un azidoacétate sur la position 4" 27, lequel peut se couper en alcool 4" par un traitement similaire au précédent : le passage sur résine échangeuse Amberlite IRA 410 pour 5 fournir le diazidoalcool 28. L'étape de réduction catalytique finale permet d'obtenir le dérivé diaminé 29 correspondant à la formule générale I (où NR₁R₂ = 3"-αNH₂ ; X = OH ; Y = CH₂NH₂). Les sels formés à partir des composés azotés sont, par exemple, des chlorhydrates et se forment de façon classique en traitant une solution méthanolique du composé azoté par une solution stoechiométrique par rapport aux sites à salifier 10 de méthanol chlorhydrique préalablement dosé. Le chlorhydrate cristallisé peut éventuellement s'obtenir par précipitation dans le milieu réactionnel par addition d'éther éthylique.

A titre indicatif et pour illustrer les différentes étapes de la synthèse mais, de façon non limitative, les exemples suivants sont donnés.

15 **EXEMPLE 1**

Formule générale I : NR₁R₂ = βNH₂ ; XY = OCH(CH₃)OCH₂

4'-Déméthyl-4-O(3-amino-2,3-didésoxy-4,6-éthylidène-β-D-arabinohexopyranosyl) épipodophyllotoxine (composé 10)

Stade 1

20 Une solution de tri-O-acétyl-D-glucal 1 (50 g ; 183 mmol) dans de l'eau (400 ml) est chauffée durant 3 h à 80°C. Le milieu réactionnel est alors refroidi à 20°C avant addition d'azoture de sodium (17,9 g ; 275 mmol) et d'acide acétique (38 ml ; 600 mmol). Après agitation à température ambiante durant 24 h, le milieu est neutralisé par du NaHCO₃ (sel). La phase est extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 x 500 ml). Les 25 phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄ puis concentrées sous pression réduite. Ceci fournit 51 g de produit brut 2 immédiatement traité comme suit.

Caractéristiques :

CCM : cyclohexane/AcOEt : 1/1 ; R_f = 0,43

C₁₀H₁₅N₃O₆ M = 273

Stade 2

Tertbutyldiméthylsilyl-3-azido-2,3-didésoxy-4,6-di-O-acétyl- β -D-arabinohexopyranoside 3 et tertbutyldiméthylsilyl-3-azido-2,3-didésoxy-4,6-di-O-acétyl- β -D-ribohexopyranoside 4

5 A une solution du mélange brut 2 (16,1 g ; 58 mmol) obtenu au stade 1 dans du dichlorométhane anhydre (200 ml) préalablement refroidi à 0°C, sont ajoutés successivement, sous argon, 6 g d'imidazole (87,8 mmol) et 13,24 g de chlorure de tertbutyldiméthylsilyle (87,8 mmol). Après agitation durant 15 min à 0°C et 19 h à 20°C, le milieu réactionnel est versé dans 500 ml H₂O. La phase aqueuse est extraite par du CH₂Cl₂ (200 ml) puis après séchage sur MgSO₄, la phase organique est concentrée sous pression réduite et le résidu (18,7 g) est chromatographié sur gel de silice (cyclohexane/AcOEt : 9/1). On isole ainsi 10,7 g de 3 (sirop ; 48 %) et 4,7 g de 4 (sirop ; 21 %) ; cependant que des fractions intermédiaires renferment un mélange de 3 et 4 (3,3 g ; 15 %).

15	Caractéristiques :	3	CCM : cyclohexane/AcOEt : 4/1 $R_f = 0,45$ [α]D ₂₀ = - 10° (c = 1,4 ; CHCl ₃) SM : m/z 405 (M + NH ₄) C ₁₆ H ₂₉ N ₃ O ₆ Si M = 387
20		4	$R_f = 0,52$ [α]D ₂₀ = + 10° (c = 1 ; CHCl ₃) SM : m/z 405 (M + NH ₄) C ₁₆ H ₂₉ N ₃ O ₆ Si M = 387
	1H RMN 300MHz CDCl ₃ δ		
25	Dérivé 3 :		0,13 (3H, s, S _i CH ₃) ; 0,14 (3H, s S _i CH ₃) ; 0,92 (9H, s, tBu) ; 1,72 (1H, m, J _{2a-1} = 9,5 Hz, J _{2a-2e} = 12,5 Hz, J _{2a-3} = 12,5 Hz, H _{2a}) 2,05 (3H, s, COCH ₃) ; 2,15 (3H, s, COCH ₃) ; 2,25 (1H, ddd, J _{2e-1} = 1,5 Hz, J _{2e-2a} = 12,5 Hz, J _{2e-3} = 4,5 Hz, H _{2e}) ; 3,55 - 3,62 (2 H, m, H ₃ et H ₅) ;
30			

13

4,10 (1H, dd, $J_{6-5} = 2,5$ Hz, H₆) ;
 4,20 (1H, dd, $J_{6-5} = 6$ Hz, $J_{6-6'} = 12$ Hz, H_{6'}) ;
 4,86 (1H, t, J = 9,5 Hz, H₄) ;
 4,86 (1H, dd, $J_{1-2a} = 9,5$ Hz, $J_{1-2e} = 1,5$ Hz, H₁).

- 5 Dérivé 4 : 0,1 (6H, s, Si(CH₃)₂) ; 0,88 (9H, s, tBu) ;
 1,64 (1H, ddd, $J_{2a-2e} = 14$ Hz, $J_{2a-1} = 8,5$ Hz,
 $J_{2a-3} = 3,5$ Hz, H_{2a}) ;
 2,03 (1H, ddd, $J_{2e-2a} = 14$ Hz, $J_{2e-1} = 2$ Hz, $J_{2e-3} = 4$ Hz, H_{2e}) ;
 10 2,05 (3H, s, COCH₃) ; 2,13 (3H, s, COCH₃) ;
 4,05 - 4,12 (1H, m, H₅) ;
 4,17 - 4,22 (3H, m, H₃, H₆ et H_{6'}) ; 4,89 (1H, dd,
 $J_{4-5} = 9,5$ Hz, $J_{4-3} = 3,5$ Hz, H₄) ;
 5,02 (1H, dd, $J_{1-2a} = 8,5$ Hz, $J_{1-2e} = 2$ Hz, H₁).

15 Stade 3**Tertbutyldiméthylsilyl-3-azido-2,3-didésoxy-β-D-arabino-hexopyranoside 5**

A une solution du dérivé 3 (3 g ; 7,7 mmol) obtenu au stade 2 dans du méthanol anhydre (40 ml) est ajoutée, sous argon, une solution de méthanolate de sodium 1M (1,9 ml). Après réaction durant 1 h 30 à 20°C, le milieu réactionnel est ramené à pH = 7 par addition de résine H⁺ (amberlite IRC 50 S). Le mélange réactionnel est filtré et le filtrat concentré sous pression réduite conduisant à 2,27 g de 5 (97 %).

Caractéristiques : CCM : cyclohexane/AcOEt : 2/1 ; R_f = 0,36

$[\alpha]_D^{20} = -26^\circ$ (c = 1 ; CHCl₃)

SM : m/z 304 (M + H)⁺ 321 (M + NH₄)⁺

25 P_f = 70 - 72°C

C₁₂H₂₅N₃O₄Si M = 303

Stade 4**Tertbutyldiméthylsilyl-3-azido-2,3-didésoxy-4,6-O-éthylidène-β-D-arabino-hexopyranoside (6)**

30 A une solution de 5 (0,20 g ; 0,6 mmol) obtenu au stade 3 dans 5 ml

d'acétonitrile, on ajoute 0,94 ml (6,6 mmol) du diéthylacétal de l'acétaldéhyde puis 15 mg d'acide paratoluènesulfonique (0,08 mmol). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante durant 1 h puis dilué par de l'acétate d'éthyle (20 ml) avant lavage par une solution d'hydrogénocarbonate de sodium (pH = 9) (20 ml) puis par de l'eau (20 ml). La phase organique est séchée sur MgSO₄ puis concentrée sous pression réduite pour fournir 0,25 g de produit brut. Une purification sur gel de silice (cyclohexane/AcOEt : 95/5) permet d'isoler 0,19 g de 6 pur (86 %).

	Caractéristiques :	CCM : cyclohexane/AcOEt : 7/3 ; R _f = 0,89
		[α] _D 20 = - 19° (c 1,1, CHCl ₃)
10		SM : m/z 347 (M + NH ₄) ⁺
		C ₁₄ H ₂₇ N ₃ O ₄ Si M = 329
		C H N
	Calculé	51,04 8,26 12,75
	Trouvé	51,64 8,43 12,51

15 Stade 5

Tertbutyldiméthylsilyl-3-amino-2,3-didésoxy-4,6-O-éthylidène-β-D-arabino-hexopyranoside (7)

A une solution de 6 (2 g ; 6 mmol) obtenu au stade 4 dans 30 ml d'acétate d'éthyle sont ajoutés 50 µl de triéthylamine puis 0,5 g de charbon palladié à 10 %. Le milieu réactionnel est mis sous atmosphère d'hydrogène (pression atmosphérique). Après agitation durant 6 h à température ambiante, le catalyseur est éliminé par filtration et la phase organique concentrée sous pression réduite pour fournir 1,82 g de 7 pur (98 %).

	Caractéristiques :	CCM : cyclohexane/AcOEt : 1/1 ; R _f = 0,23
25		[α] _D 20 = - 28° (c = 1,3 ; CHCl ₃)
		SM : m/z 304 (M + H) ⁺
		C ₁₄ H ₂₉ NO ₄ Si M = 303

Stade 6

Tertbutyldiméthylsilyl-3-aminobenzoyloxycarbonyl-2,3-didésoxy-4,6-O-éthylidène-β-D-arabino-hexopyranoside (8)

Le chlorure de benzyloxycarbonyle (1,12 ml ; 7,88 mmol) est ajouté, sous argon, à une solution préalablement refroidie à 0°C de l'acétal 7 (1,82 g ; 6 mmol) obtenu au stade 5 dans un mélange de dichlorométhane (30 ml) et de triéthylamine (1,27 ml ; 9,1 mmol) anhydres. Après agitation durant 8 h, le milieu réactionnel est versé dans 100 ml 5 H₂O et la phase aqueuse est extraite par du CH₂Cl₂ (100 ml). La phase organique est séchée sur MgSO₄, concentrée sous pression réduite et le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/AcOEt : 6/1 et 4/1) afin d'isoler 1,9 g de 8 (72 %).

Caractéristiques :

10

CCM : cyclohexane/AcOEt : 1/1 ; R_f = 0,64[α]_D²⁰ = - 27° (c = 1,14 ; CHCl₃)SM : m/z 438 (M + H)⁺P_f = 102°CC₂₂H₃₅NO₆Si M = 437

15

C H N

Calculé 60,38 8,06 3,20

Trouvé 60,27 8,10 3,29

Stade 7

3-aminobenzyloxycarbonyl-2,3-didésoxy-4,6-O-éthylidène-β-D-arabino-hexopyranoside de la 4'-benzyloxycarbonyl-épipodophyllotoxine (9)

20

Au sucre 8 (2,0 g ; 4,57 mmol) obtenu au stade 6 en solution dans du dichlorométhane anhydre (100 ml) sont ajoutés 5,06 ml de fluorure de tétrabutylammonium (solution 1,1 M dans le THF ; 5,5 mmol). Lorsque la disparition totale de 8 est constatée par CCM (2 h d'agitation), le milieu réactionnel est refroidi à - 20°C. On additionne alors successivement la DMEPT 4'-OZ (2,57 g ; 4,8 mmol) puis 8,44 ml 25 de BF₃.Et₂O (68,6 mmol). Après réaction durant 1 h à - 20°C, le milieu réactionnel est versé dans 200 ml d'une solution de NaHCO₃ saturée (addition de sels de NaHCO₃) (pH = 9). La phase organique est séchée sur MgSO₄, concentrée sous pression réduite, puis le résidu brut (6,2 g) est chromatographié sur gel de silice (CH₂Cl₂/Acétone : 98/2 puis 97/3) pour fournir 9 (2,1 g ; 54 %).

16

Caractéristiques :

CCM : CH₂Cl₂/Acétone : 92/8 ; R_f = 0,61[α]_D20 = - 74° (c = 1,1 ; CHCl₃)SM : m/z 857 (M + NH₄)⁺P_f = 175°C

5

C₄₅H₄₅NO₁₅ M = 839

C H N

	Calculé	64,36	5,40	1,67
	Trouvé	64,21	5,30	1,58

Stade 8

10 A une solution de 9 (0,28 g ; 0,33 mmol) dans 20 ml d'acétate d'éthyle sont ajoutés 30 µl de triéthylamine puis 150 mg de charbon palladié à 10 %. Le milieu réactionnel est mis sous atmosphère d'hydrogène (pression atmosphérique). Après agitation durant 1 h 30 à température ambiante, le catalyseur est éliminé par filtration et la phase organique concentrée sous pression réduite puis chromatographiée sur gel de silice (CH₂Cl₂/MeOH : 97/3 puis 95/5) pour fournir 172 mg du composé 10 pur (90 %).
 15 (Recristallisation dans CH₂Cl₂/pentane).

Caractéristiques :

CCM : CH₂Cl₂/MeOH : 95/5 ; R_f = 0,31[α]_D20 = - 120° (c = 1,05 ; CHCl₃)SM : m/z 594 (M + Na)⁺ 610 (M+ K)⁺

20

P_f = 219°CC₂₉H₃₃NO₁₁ M = 571

C H N

	Calculé	60,94	5,82	2,45
	Trouvé	60,45	5,78	2,58

25 ¹H RMN 300 MHz CDCl₃ δ 1,36 (3H, d, J = 5Hz, CH₃-CH) ; 1,51 (1H, m, H₂"a) ; 2,05 (1H, m, H₂"e) ; 2,88 (1H, m, H₃) ; 3,02 (2H, m, H₃" et H₄") ; 3,28 (1H, m, J₂₋₁ = 5,2 Hz, H₂) ; 3,30 (1H, m, H₅") ; 3,57 (1H, t, J = 10 Hz, H₆"a) ; 3,75 (6H, s, OCH₃) ; 4,15 (1H, dd, J = 5 Hz, J = 10 Hz, H₆"e) ; 4,41 (1H, dd, J = 9 Hz, H_{11a}) ; 4,21 (1H, t, J = 9 Hz, H_{11b}) ; 4,59 (1H, d, J = 5,2 Hz, H₁) ; 4,75 (1H, q, J = 5 Hz, H₇") ; 4,85 (1H, dd, J = 9 Hz, J = 2 Hz, H₁") ; 4,94 (1H, d, J = 3,3 Hz, H₄) ; 5,98 (1H, d,

OCH_AO) ; 6,00 (1H, d, OCH_BO) ; 6,24 (2H, s, H_2 et $\text{H}_{6'}$) ; 6,55 (1H, s, H_8) ; 6,75 (1H, s, H_5).

Préparation du chlorhydrate

A l'amine 10 (61 mg ; 0,10 mmol) en solution dans du dichlorométhane anhydre (6 ml) est ajoutée une solution de méthanol chlorhydrique 0,098 M (1,09 ml ; 0,106 mmol). Le milieu réactionnel est agité durant 10 minutes. Le produit attendu est précipité après addition d'éther (20 ml). On recueille 56 mg (86 %) du chlorhydrate de 10.

Caractéristiques :

$P_f = 230^\circ \text{C}$

10

$\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{NO}_{11}\text{Cl} M = 606$

Essai de solubilité : 2,56 mg dans 0,3 ml d'eau

$C = 0,014 \text{ M}$

EXEMPLE 2

Formule générale I ($\text{NR}_1\text{R}_2 = \beta\text{NMe}_2$; $\text{XY} = \text{OCH}(\text{CH}_3)\text{OCH}_2$)

15 4'-Déméthyl-4-O(3-diméthylamino-2,3-didesoxy-4,6-éthylidène- β -D-arabinohexopyranosyl) épipodophyllotoxine (Composé 11)

A une solution de 10 (0,19 g ; 0,33 mmol) dans du dichlorométhane anhydre (15 ml) sont ajoutés successivement du formaldéhyde (13,5 μl) et du cyanoborohydrure de sodium (85 mg). Après agitation durant 45 min à température ambiante, ces mêmes 20 réactifs sont additionnés et la réaction est poursuivie durant 45 min. Le milieu réactionnel est dilué par du CH_2Cl_2 (30 ml) et lavé par de l'eau (40 ml). La phase organique est séchée sur MgSO_4 et concentrée sous pression réduite. Le résidu est chromatographié sur gel de silice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} : 97/3$). Ceci fournit 101 mg de 11 (51 %).

25 Caractéristiques :

CCM : $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} : 95/5$; $R_f = 0,4$

$[\alpha]_D^{20} = -121^\circ$ ($c = 1$; CHCl_3)

SM : m/z 600 ($\text{M} + \text{H}$) $^+$

$P_f = 270^\circ \text{C}$

$\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{NO}_{11} M = 599$

30 ^1H RMN 300 MHz CDCl_3 δ 1,38 (3H, d, $J = 5$ Hz, $\text{CH}_3 - \text{CH}$) ; 1,55 (1H, m, $\text{H}_{2''a}$) ;

1,96 (1H, m, H₂"a) ; 1,96 (1H, m, H₂"e) ; 2,33 (3H, s, CH₃ - N) ; 2,91 - 2,82 (1H, m, H₃) ; 2,91 - 2,82 (1H, m, H₃") ; 3,35 - 3,25 (1H, m, H₅") ; 3,38 (1H, t, J_{4"-5"} = 9 Hz, J_{4"-3"} = 9 Hz, H₄") ; 3,58 (1H, t, J_{6"-a-5"} = 10 Hz, J_{6"-a-6"}e = 10 Hz, H₆"a) ; 3,75 (3H, s, CH₃ O) ; 4,16 (1H, dd, J_{6"-e-5"} = 5 Hz, J_{6"-e-6"}a = 10 Hz, H₆"e) ; 4,21 (1H, t, J_{9b-9a} = 9 Hz, J_{9b-3} = 8 Hz, H_{9b}) ; 4,42 (1H, dd, J_{9a-9b} = 9 Hz, J_{9a-3} = 10,5 Hz, H_{9a}) ; 4,59 (1H, d, J₁₋₂ = 5,2 Hz, H₁) ; 4,74 (1H, q, J = 5 Hz, CH - CH₃) ; 4,82 (1H, dd, J_{1"-2"}a = 9,5 Hz, J_{1"-2"}e = 2 Hz, H₁") ; 4,95 (1H, d, J₄₋₃ = 3,2 Hz, H₄) ; 5,97 (1H, d, OCH_AO) ; 6,00 (1H, d, OCH_BO) ; 6,25 (2H, s, H₂, et H_{6'}) ; 6,55 (1H, s, H₈) ; 6,76 (1H, s, H₅).

10 Préparation du chlorhydrate

A l'amine 11 (101 mg ; 0,17 mmol) en solution dans du dichlorométhane anhydre (7 ml) est ajoutée une solution de méthanol chlorhydrique 0,098 M (1,72 ml ; 0,17 mmol). Le milieu réactionnel est agité durant 10 minutes. Le produit attendu est précipité après addition d'éther (20 ml). On recueille 86 mg (81 %) du chlorhydrate de 11.

15 Caractéristiques : P_f = 199°C
 C₃₁H₃₃NO₁₁Cl M = 635
 Essai de solubilité : 2,5 mg dans 0,1 ml d'eau
 C = 0,038 M

20 EXEMPLE 3

Formule générale I : NR₁R₂ = α-NH₂ ; XY = OCH(CH₃)OCH₂

4'-Déméthyl-4-O-(3-amino-2,3-didésoxy-4,6-éthylidèneβ-D-ribohexopyranosyl) épipodophyllotoxine (composé 19)

Stade 1

25 Tertbutyldiméthylsilyl-3-azido-2,3-didésoxy-β-D ribo hexopyranoside (composé 12)

De façon similaire, au stade 3 de l'exemple 1, mais en utilisant le composé 4, on obtient le composé 12 qui est engagé directement dans le stade 2.

Stade 2

Tertbutyldiméthylsilyl-3-azido-2,3-didésoxy-4,6-O-éthylidène-β-D-ribo hexopyranoside

30 (13)

A une solution de 12 (0,25 g ; 0,8 mmol) obtenu au stade 1 dans 10 ml d'acétonitrile, on ajoute 1,1 ml (8 mmol) du diéthylacétal de l'acétaldéhyde puis 52 mg d'acide camphorsulfonique (0,24 mmol). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante durant 9 h puis dilué par de l'acétate d'éthyle (30 ml) avant lavage par une solution d'hydrogénocarbonate de sodium (pH = 9) puis par de l'eau (30 ml). La phase organique est séchée sur MgSO₄ puis concentrée sous pression réduite pour fournir 0,3 g de produit brut. Une purification sur gel de silice (cyclohexane/AcOEt : 15/1) permet d'isoler 0,15 g de 13 pur (55 %).

Caractéristiques : CCM : cyclohexane/AcOEt : 4/1 ; R_f = 0,77
10 [α]_D20 = - 35° (c = 1,1 CHCl₃)
C₁₄H₂₇N₃O₄Si M = 329

Stade 3

3-azido-2,3-didésoxy-4,6-O-éthylidène-β-D-ribo-hexopyranoside de la 4'-benzyloxycarbonyl-épipodophyllotixne (composé 14)

15 1ère voie de synthèse :

A un mélange de DMEPT 4'-OZ (438 mg ; 0,82 mmol), de 13 (270 mg ; 0,82 mmol) obtenu au stade 2 et de tamis moléculaire 4 A (1,5 g) dans du dichlorométhane anhydre (30 ml) refroidi à - 40°C, est ajouté le triméthylsilyl-trifluorométhanesulfonate (TMSOTf) (446 µl ; 2,46 mmol). Après réaction durant 1 h 20 à - 40°C, le milieu réactionnel est neutralisé par de la triéthylamine (342 µl), filtré puis lavé par une solution saturée de NaCl (20 ml). La phase organique est séchée sur MgSO₄, concentrée sous pression réduite puis, le résidu brut est chromatographié sur gel de silice (cyclohexane/AcOEt : 65/35) pour fournir 14 (260 mg ; 45 %).

2ème voie de synthèse :

25 A un mélange de DMEPT 4'OZ (1,85 g ; 3,46 mmol), de 13 (1,20 g ; 3,64 mmol) obtenu au stade 2 dans du dichlorométhane anhydre (100 ml) refroidi à - 15°C, est ajouté l'éthérate de trifluorure de bore (BF₃.Et₂O) (425 µl ; 3,46 mmol). Après réaction durant 2 h à - 15°C, le milieu réactionnel est dilué par 100 ml de CH₂Cl₂ puis, versé dans 200 ml d'une solution de NaHCO₃ saturée. La phase organique est séchée sur 30 MgSO₄, concentrée sous pression réduite puis, le résidu brut (2,9 g) est

chromatographié sur gel de silice (cyclohexane/AcOEt : 65/35) pour fournir 14 (1,19 g ; 47 %) (recristallisation Et₂O/hexane).

Caractéristiques :

CCM : cyclohexane/AcOEt : 6/4 ; R_f = 0,41

cyclohexane/AcOEt : 65/3 ; R_f = 0,27

5

[α]_D20 = - 105° (c = 1,05 ; CHCl₃)

SM : m/z 749 (M + NH₄)⁺

P_f = 139°C

C₃₇H₃₇N₃O₁₃ M = 731

Stade 4

10 3-amino-2,3-didésoxy-4,6-O-éthylidène-β-D-ribo-hexopyranoside d'épipodophyllotixine 15

A une solution de 14 (110 mg ; 0,15 mmol) obtenu au stade 3 dans un mélange de 10 ml d'éthanol et de 5 ml d'acétate d'éthyle sont ajoutés 20 µl de triéthylamine puis 20 mg de charbon palladié à 10 %. Le milieu réactionnel est mis sous atmosphère 15 d'hydrogène (pression atmosphérique). Après agitation durant 2 h à température ambiante, le catalyseur est éliminé par filtration et la phase organique concentrée sous pression réduite puis chromatographiée sur gel de silice (CH₂Cl₂/MeOH : 97/3 puis 95/5) pour fournir 63 mg de 15 pur (72 %).

Caractéristiques :

CCM : CH₂Cl₂/MeOH : 95/5 ; R_f = 0,39

20

[α]_D20 = - 100° (c = 1,05 ; CHCl₃)

SM : m/z 572 (M + 1) 589 (M + NH₄)⁺

P_f = 217°C

C₂₉H₃₃NO₁₁ M = 571

¹HRMN 300 MHz CDCl₃ δ : 1,35 (3H, d, J = 5 Hz, CH₃-CH) ; 1,73 (1H, m, H₂"a) ; 1,90 (1H, m, H₂"e) ; 2,83 (1H, m, H₃) ; 3,22 (1H, dd, J₂₋₁ = 5,2 Hz, J₂₋₃ = 14 Hz, H₂) ; 25 3,42 (1H, dd, J_{4"-3"} = 9,5 Hz, J_{4"-5"} = 3,5 Hz, H_{4"}) ; 3,74 (6H, s, OCH₃) ; 3,49 - 3,60 (2H, m, H₃" et H₆"") ; 3,94 - 4,02 (1H, m, H₅"") ; 4,10 - 4,20 (2H, m, H₆" et H_{11b}) ; 4,42 (1H, dd, J_{11a-3} = 9Hz, J_{11a-11b} = 9,5 Hz, H_{11a}) ; 4,57 (1H, d, J₁₋₂ = 5,2 Hz, H₁) ; 4,78 (1H, q, J = 5 Hz, H₇"") ; 4,91 (1H, d, J₄₋₃ = 3,4 Hz, H₄) ; 5,38 (1H, dd, J_{1"-2"}e = 2 Hz, J_{1"-2"}a = 9 Hz, H₁"") ; 5,93 (1H, s, OCH_AO) ; 5,97 (1H, s, OCH_BO) ; 6,25 (2H, s,

H_{2'} et H_{6'}) ; 6,51 (1H, s, H₈) ; 6,86 (1H, s, H₅).

Préparation du chlorhydrate

A l'amine 15 (50 mg ; 0,087 mmol) obtenue au stade 4 sont ajoutés 890 µl d'une solution de méthanol chlorhydrique 0,098 M (0,087 mmol). Après agitation durant 10 minutes et addition d'éther (10 ml), les cristaux ou chlorhydrate (52 mg, 98 %) sont obtenus par filtration.

Caractéristiques :

P_f = 175°C

C₂₉H₃₄NO₁₁Cl M = 607

Essai de solubilité : 2,2 mg dans 0,2 ml d'eau

C = 0,02 M

EXEMPLE 4

Formule générale I : NR₁R₂ = α-NMe₂ ; XY = OCH(CH₃)OCH₂

4'-Déméthyl-4-O(3-N,N-diméthylamino-2,3-didésoxy-4,6-O-éthylidène-β-D-ribo-hexopyranosyl) épipodophyllotoxine 20

A une solution de 15 (29 mg : 0,05 mmol) obtenu au stade 4 de l'exemple 3 dans 1 ml d'acétonitrile sont ajoutés successivement du formaldéhyde (10,3 µl) et du cyanoborohydure de sodium (12 mg). Après agitation durant 2 h à température ambiante, le milieu réactionnel est dilué par du CH₂Cl₂ (20 ml) et lavé par de l'eau (20 ml). La phase organique est séchée sur MgSO₄ et concentrée sous pression réduite.

Le résidu est remis en réaction dans les mêmes conditions et après un traitement identique chromatographié sur gel de silice (CH₂Cl₂/MeOH : 97/3). Ceci fournit 29 mg de 20 (95 %).

Caractéristiques :

CCM : CH₂Cl₂/MeOH : 95/5 ; R_f = 0,5

[α]_D20 = - 85° (c = 1,06 ; CHCl₃)

SM : m/z 600 (M + H)⁺

P_f = 140°C

C₃₁H₃₇NO₁₁ M = 599

¹H RMN 300 MHz CDCl₃ δ : 1,35 (3H, d, J = 5 Hz) ; 1,55 (1H, m, H_{2''a}) ; 2,20 (1H, m, H_{2''e}) ; 2,36 (3H, s, CH₃ N) ; 2,62 (1H, m, 2,62, H_{3''}) ; 2,85 (1H, m, H₃) ; 3,23 (1H,

dd, J₂₋₁ = 5,2 Hz, J₂₋₃ = 14 Hz, H₂) ; 3,52 (1H, dd, J_{4''-3''} = 3 Hz, J_{4''-3''} = 9 Hz, H_{4''}) ;

3,61 (1H, t, $J_{6''a-6''e} = 10$ Hz, $J_{6''a-5''} = 10$ Hz, H_{6''a}) ; 3,75 (3H,s, CH₃ O) ; 4,22 - 4,02 (1H, m, H_{5''}) ; 4,22 - 4,02 (1H, m, H_{6''e}) ; 4,22 - 4,02 (1H, m, H_{9b}) ; 4,43 (1H, dd, $J_{9a-9b} = 9$ Hz, $J_{9b-3} = 10,5$ Hz, H_{9b}) ; 4,62 - 4,57 (1H, m, $J_{1-2} = 5,2$ Hz, H₁) ; 4,62 - 4,57 (3H, m, J = 5 Hz, CH-CH₃) , 4,88 (1H, d, $J_{4-3} = 3,4$ Hz, H₄) ; 5,96 (1H, d, OCH_A O) ; 5,98 (1H, d, OCH_B O) ; 6,25 (2H, s, H₂ et H_{6'}) ; 6,52 (1H, s, H₈) ; 6,80 (1H, s, H₅).

Préparation du chlorhydrate

A l'amine 20 (59 mg ; 0,1 mmol) en solution dans du méthanol anhydre (2 ml) est ajoutée une solution de méthanol chlorhydrique 0,098 M (1 ml ; 0,1 mmol). Le milieu réactionnel est agité durant 10 minutes. Le produit attendu est précipité après 10 addition d'éther (20 ml). On recueille 33 mg (53 %) de cristaux.

Caractéristiques :

$P_f = 150^\circ\text{C}$

$C_{31}H_{38}NO_{11}Cl M = 635$

Essai de solubilité : 2,6 mg dans 0,1 ml d'eau

$C = 0,04$ M

EXEMPLE 5

Formule générale I : NR₁R₂ = α -NHCH₂CN ; XY = OCH(CH₃)OCH₂

4'-Déméthyl-4-O-(3-cyanométhylamino-2,3-didésoxy-4,6-éthylidène- β -D-ribo-hexopyranosyl) épipodophyllotoxine (Composé 16)

A une solution de 15 (120 mg ; 0,21 mmol) obtenu au stade 4 de l'exemple 3 dans 4 ml de diméthylformamide sont ajoutés 200 μ l de triéthylamine (1,47 mmol) puis 100 μ l d'iodoacetonitrile (1,47 mmol). Le milieu réactionnel est agité durant 20 h à température ambiante puis dilué par de l'acétate d'éthyle (30 ml) avant lavage par de l'eau (4 x 30 ml). La phase organique est séchée sur MgSO₄, concentrée sous pression réduite puis chromatographiée sur gel de silice (CH₂Cl₂/acétone : 92/8) pour fournir 25 71 mg de 16 pur (55 %).

Caractéristiques :

CCM : CH₂Cl₂/MeOH : 95/5 ; $R_f = 0,25$

$[\alpha]_D^{20} = -86^\circ$ ($c = 0,80$; CHCl₃)

SM : m/z 611 (M + H)⁺ 628 (M + NH₄)⁺

$C_{31}H_{34}N_2O_{11} M = 610$

¹H RMN 300 MHz CDCl₃ δ : 1,35 (3H, d, J = 5Hz, CH₃CH) ; 1,69 (1H, m, J_{2"-a-1} = 9,5 Hz, J_{2"-a-2"e} = 13 Hz, J_{2"-a-3} = 3 Hz, H_{2"-a}) ; 1,93 (1H, m, H_{2"-e}) ; 2,86 (1H, m, H₃) ; 3,25 (1H, dd, J₂₋₁ = 5,2 Hz, J₂₋₃ = 14 Hz, H₂) ; 3,51 - 3,56 (2H, m, H_{4"} et H_{6"-a}) ; 3,56 (2H, m, CH₂CN) ; 3,76 (6H, s, OCH₃) ; 3,88 (1H, m, H_{5"}) ; 4,17 (2H, t, J_{11a-3} = 8 Hz, J_{11a-11b} = 10 Hz, H_{3"} et H_{11b}) ; 4,14 (1H, dd, J_{6a"-6"b} = 10 Hz, J_{6"-b-5"} = 5 Hz, H_{6"-b}) ; 4,41 (1H, dd, J_{11a-3} = 9 Hz, J_{11a-11b} = 10 Hz, H_{11a}) ; 4,60 (1H, d, J₁₋₂ = 5,3 Hz, H₁) ; 4,75 (1H, q, J = 5 Hz, H_{7"}) ; 4,90 (1H, d, J₄₋₃ = 3,3 Hz, H₄) ; 5,17 (1H, dd, J_{1"-2"e} = 2 Hz, J_{1"-2"e} = 9,5 Hz, H_{1"}) ; 5,99 (1H, s, OCH_AO) ; 6,00 (1H, s, OCH_BO) ; 6,25 (2H, s, H₂ et H_{6'}) ; 6,54 (1H, s, H₈) ; 6,79 (1H, s, H₅).

10 EXEMPLE 6

Formule générale I : NR₁R₂ = α-morpholino ; XY = OCH(CH₃)OCH₂
4'-Déméthyl-4-O-(3-N-morpholino-2,3-didesoxy-4,6-éthylidène-β-D-ribo-
hexopyranosyl) épipodophyllotoxine (Composé 17)

A une solution de 15 (60 mg ; 0,10 mmol) obtenu au stade 4 de l'exemple 3 dans
15 2 ml de diméthylformamide sont ajoutés 58 μl de triéthylamine (0,42 mmol) puis
512 mg de di-iodoéthyléther (1,57 mmol). Le milieu réactionnel est agité durant 96 h à
température ambiante et à l'obscurité puis, dilué par de l'acétate d'éthyle (30 ml) avant
lavage par de l'eau (4 x 30 ml). La phase organique est séchée sur MgSO₄, concentrée
sous pression réduite puis chromatographiée sur gel de silice (CH₂Cl₂/acétone : 92/8)
20 pour fournir 46 mg de 17 pur (68 %).

Caractéristiques :

CCM : CH₂Cl₂/acétone : 92/8 ; R_f = 0,31

[α]_D²⁰ = - 98° (c = 1,04 ; CHCl₃)

C₃₃H₃₉NO₁₂ M = 641

¹H RMN 300 MHz CDCl₃ δ : 1,33 (3H, d, J = 5Hz, CH₃CH) ; 1,55 (1H, m, J_{2"-a-1"} = 9,5 Hz, J_{2"-a-2"e} = 13 Hz, J_{2"-a-3"} = 3 Hz, H_{2"-a}) ; 2,15 (1H, m, H_{2"-e}) ; 2,84-2,90 (5H,
25 m, CH₂N et H₃) ; 2,80 (1H, dd, J_{3"-4"} = 3Hz, J_{3"-2"e} = 3 Hz, J_{3"-2"e} = 3 Hz, H_{3"}) ;
3,23 (1H, dd, J₂₋₁ = 5,2 Hz, J₂₋₃ = 14 Hz, H₂) ; 3,48 (1H, t, J_{6a"-6"b} = 12 Hz, J_{6"-a-5"}
= 12 Hz, H_{6"-a}) ; 3,57 (1H, dd, J_{3"-4"} = 3Hz, J_{4"-5"} = 9 Hz, H_{4"}) ; 3,66-3,76 (10H, m,
OCH₃ et OCH₂) ; 4,08-4,16 (2H, m, H_{5"} et H_{6"-b}) ; 4,20 (1H, t, J_{11a-3} = 8 Hz, J_{11a-}
30 J_{11b} = 9 Hz, H_{11a}) ; 4,43 (1H, dd, J_{11b-3} = 9 Hz, J_{11b-11a} = 9 Hz, H_{11b}) ; 4,57-4,62

(2H, m, H₁ et H_{7''}) ; 4,89 (1H, d, J₄₋₃ = 3,4 Hz, H₄) ; 5,20 (1H, dd, J_{1''-2''e} = 2 Hz, J_{1''-2''a} = 9,5 Hz, H_{1''}) ; 5,97 (1H, s, OCH_AO) ; 6,00 (1H, s, OCH_BO) ; 6,25 (2H, s, H_{2'} et H_{6'}) ; 6,54 (1H, s, H₈) ; 6,73 (1H, s, H₅).

EXEMPLE 7

- 5 Formule générale I : NR₁R₂ = α-NH₂(CH₂)₂NH₂ ; XY = OCH(CH₃)OCH₂
 4'-Déméthyl-4-O[3-(2-Aminoéthylamino)-2,3-didésoxy-4,6-éthylidène-β-D-ribo-
 hexopyranosyl] épipodophyllotoxine 18

A une solution de 15 (173 mg ; 0,30 mmol) obtenu au stade 4 de l'exemple 3 dans 10 ml de diméthylformamide sont ajoutés de la triéthylamine (127 µl ; 0,91 mmol) 10 et du N-benzyloxycarbonyl-2-iodoéthyl-amine (0,28 g ; 0,91 mmol). Le milieu réactionnel est agité durant 5 jours à température ambiante puis, dilué par de l'eau (30 ml). Après extraction de l'acétate d'éthyle (30 ml) lavage à l'eau (5 x 20 ml), la phase organique est séchée sur MgSO₄, concentrée sous pression réduite, puis chromatographiée sur gel de silice (CH₂Cl₂/MeOH : 97/3) pour fournir 155 mg de 18 15 pur (68 %).

Caractéristiques :

CCM : CH₂Cl₂/MeOH : 95/5 ; R_f = 0,70

[α]_D20 = - 74° (c = 1,17 ; CHCl₃)

SM : m/z 749 (M + H)⁺

C₃₉H₄₄N₂O₁₃ M = 748

20 qui est engagé directement dans l'étape suivante de débenzylation :

A une solution de 18 (0,15 g ; 0,20 mmol) dans un mélange d'acétate d'éthyle et d'éthanol (10 ml, 1/1) sont ajoutés de la triéthylamine (30 µl) puis du charbon palladié à 10 % (0,1 g). Le milieu réactionnel est mis sous atmosphère d'hydrogène (pression atmosphérique).

25 Après agitation durant 1 h 30 à température ambiante en présence d'hydrogène à pression atmosphérique, le catalyseur est éliminé par filtration et la phase organique concentrée sous pression réduite et chromatographiée sur gel de silice (CH₂Cl₂/MeOH(NH₃) : 97/3) pour fournir 107 mg (84 %) de 19.

Caractéristiques :

CCM : CH₂Cl₂/MeOH(NH₃) : 95/5 ; R_f = 0,22

30 [α]_D20 = - 77° (c = 1 ; CHCl₃)

$P_f = 130^\circ C$

$C_{31}H_{38}NO_{11} M = 614$

1H RMN 300 MHz $CDCl_3\delta$: 1,33 (3H, d, $J = 5$ Hz) ; 1,55 (1H, m, H_2 "_a) ; 2,15 (1H, m, H_2 "_e) ; 2,33 (3H, m, NH_2 et NH échangeables) ; 2,84-2,90 (5H, m, CH_2 -N et H_3) ; 3,20 (1H, dd, J_3 "-4" = 3 Hz, J_3 "-2"_a = 3 Hz, J_3 "-2"_e = 3 Hz, H_3 ") ; 3,23 (1H, dd, H_2) ; 3,48 (1H, t, J_6 "_a-6"_b = 12 Hz, J_6 "_a-5" = 12 Hz, H_6 "_a) ; 3,57 (1H, dd, J_4 "-3" = 3 Hz, J_4 "-5" = 9 Hz, H_4 ") ; 3,75 (6H, s, OCH_3) ; 4,08-4,16 (2H, m, H_5 " et H_6 "_b) ; 4,20 (1H, t, J_{11b} -3 = 8, J_{11b} -11_a = 9 Hz, H_{11b}) ; 4,43 (1H, dd, J_{11a} -3 = 9 Hz, J_{11a} -11_b = 9 Hz, H_{11a}) ; 4,57-4,62 (2H, m, H_1 et H_7 ") ; 4,89 (1H, d, J_{4-3} = 3,4 Hz, H_4) ; 5,20 (1H, dd, J_1 "-2"_e = 2Hz, J_1 "-2"_a = 9,5 Hz, H_1 ") ; 5,97 et 6,00 (2H, d, OCH_2O) ; 6,25 (2H, s, H_2' et H_6') ; 6,54 (1H, s, H_8) ; 6,73 (1H, s, H_5).

Préparation du chlorhydrate

A la di-amine 19 (64 mg ; 0,10 mmol) en solution dans du méthanol anhydre (3 ml) est ajoutée une solution de méthanol chlorhydrique 0,098 M (2,13 ml ; 0,21 mmol). Le milieu réactionnel est agité durant 10 minutes. Le produit attendu est précipité après addition d'éther (20 ml). On recueille 50 mg (73 %) du chlorhydrate.

Caractéristiques :

$P_f = 170^\circ C$

$C_{31}H_{39}N_2O_{11}Cl_2 M = 649$

Essai de solubilité : 2,0 mg dans 0,05 ml d'eau

$C = 0,06 M$

EXEMPLE 8

Formule générale I : $NR_1R_2 = \alpha-NH_2$; $X = OH$; $Y = CH_3$

4'-Déméthyl-4-O(3-amino-2,3,6-tridésoxy β -D-ribo-hexopyranosyl) épipodophyllotoxine (composé 26)

25 Stade 1

Tertbutyldiméthylsilyl-3-azido-2,3-didésoxy-6-O-tosyl- β -D-ribo-hexopyranoside 21

Une solution de chlorure de tosyle (1,55 g ; 8,15 mmol) dans la pyridine (10 ml) est ajoutée, goutte à goutte, à une solution du diol 12 (2,06 g ; 6,79 mmol) obtenu au stade 1 de l'exemple 3 préalablement refroidie à 0°C. Après agitation à la même température durant 1 h, puis durant 18 h à 20°C, le milieu réactionnel est dilué par du

dichlorométhane (100 ml). La phase organique est lavée par de l'eau (2 x 100 ml), séchée sur MgSO₄ et concentrée sous pression réduite. Le résidu est purifié sur gel de silice (cyclohexane/EtOAc : 8/2). Ceci fournit 2,02 g de 21 (65 %).

Caractéristiques : CCM : cyclohexane/AcOEt : 2/1 ; R_f = 0,46

5 SM : m/z 475 (M + H)⁺

C₁₉H₃₁N₃O₆SSi M = 457

Stade 2

Tertbutyldiméthylsilyl-3-azido-6-iodo-2,3,6-tridésoxy-β-D-ribo-hexopyranoside 22

Le composé 21 (2,02 g ; 4,42 mmol) obtenu au stade 1 en solution dans 120 ml d'acétone est chauffé au reflux durant 72 h en présence d'iodure de sodium (2,65 g ; 10 17,68 mmol). Après refroidissement, le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite (30 ml) puis dilué par du dichlorométhane (100 ml). Après lavage par une solution aqueuse de thiosulfate de sodium à 10 %, puis séchage sur MgSO₄ et évaporation sous pression réduite, on obtient un résidu qui est purifié sur silice (cyclohexane/EtOAc : 8/2) fourni 1,5 g (82 %) de 22.

Caractéristiques : [α]_D²⁰ = - 30° (c = 1,06 ; CHCl₃)

SM : m/z 431 (M + NH₄)⁺

C₁₂H₂₄N₃O₃ISi M = 413

C	H	N
---	---	---

20	Calculé	34,87	5,81	10,17
	Trouvé	35,07	5,76	10,25

Stade 3

Tertbutyldiméthylsilyl-3-azido-6-iodo-4-O-chloroacétyl-2,3,6-tridésoxy-β-D-ribo-hexopyranoside (composé 23).

25 Du chlorure de chloroacétyle (396 ml ; 5 mmol) est ajouté à une solution de 22 (1,03 g ; 2,5 mmol) obtenu au stade précédent dans un mélange de dichlorométhane (20 ml) et de pyridine (404 µl ; 5 mmol). Après 1 h d'agitation à - 10°C, le milieu réactionnel est dilué par du CH₂Cl₂ (30 ml) et lavé par de l'eau (3 x 20 ml). Un traitement habituel, suivi d'une chromatographie sur silice (cyclohexane/EtOAc : 10/1) livre 1,1 g (90 %) de composé 23.

Caractéristiques : $[\alpha]_D^{20} = -14^\circ$ ($c = 1,03$; CHCl_3)

SM : m/z 507 ($M + \text{NH}_4$)⁺

$C_{14}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_4\text{C}_1\text{I}\text{Si}$ M = 489

	C	H	N
--	---	---	---

5	Calculé	34,35	5,11	8,59
	Trouvé	34,69	5,16	8,22

Stade 4

4'-Déméthyl-4-O(3-azido-6-iodo-2,3,6-tridésoxy- β -D ribohexopyranosyl) épipodophyllotoxine (composé 24)

10 A un mélange de DMEPT 4'-OZ (1 g ; 1,85 mmol), de 23 (1 g ; 2,04 mmol) du stade précédent dans du dichlorométhane anhydre (100 ml) refroidi à - 15°C, est ajouté l'éthérate de trifluorure de bore ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) (455 μl ; 3,7 mmol). Après réaction durant 5 h (- 15°C → 0°C), le milieu réactionnel est dilué par du CH_2Cl_2 (100 ml) puis, versé dans une solution de NaHCO_3 saturée (200 ml). La phase organique est séchée sur 15 MgSO_4 , concentrée sous pression réduite. Le résidu brut est chromatographié sur gel de silice (cyclohexane/AcOEt : 7/3) pour fournir 24 (0,8 g ; 48 %).

Caractéristiques : CCM : cyclohexane/AcOEt : 1/1 ; $R_f = 0,58$

$[\alpha]_D^{20} = -85^\circ$ ($c = 1,26$; CHCl_3)

SM : m/z 909 ($M + \text{NH}_4$)⁺

20 $P_f = 143^\circ\text{C}$
 $C_{37}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_{13}\text{ClI}$ M = 891

Stade 5

4'-Déméthyl-4-O(3-Azido-6-iodo-2,3,6-tridesoxy- β -D ribo-hexopyranosyl)4'-benzyloxy carbonyl épipodophyllotoxine (composé 25)

25 A une solution de l'azido-glycoside 24 (257 mg ; 0,29 mmol) dans un mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (15 ml, 2/1) est ajoutée de la résine OH⁻ (Amberlite IRA 410). Après réaction durant 3 h à 20° C, le milieu réactionnel est filtré puis concentré sous pression réduite pour fournir 0,22 g de 25 pur (94 %).

Caractéristiques : CCM : cyclohexane/AcOEt : 1/1 ; $R_f = 0,46$

30 $[\alpha]_D^{20} = -57^\circ$ ($c = 1,02$; CHCl_3)

SM : m/z 833 (M + NH₄)⁺

P_f = 115°C

C₃₅H₃₄N₃O₁₂I M = 815

Stade 6

- 5 4'-Déméthyl-4-O(3-amino-2,3,6-tridesoxy-β-D ribohexopyranosyl) épipodophyllotoxine (composé 26)

A une solution de 25 (0,20 g ; 0,25 mmol) du stade précédent dans 10 ml d'acétate d'éthyle sont ajoutés de la triéthylamine (100 µl) puis du charbon palladié à 10 % (0,2 g). Après agitation durant 30 h à température ambiante en présence 10 d'hydrogène à pression atmosphérique, le catalyseur est éliminé par filtration et la phase organique concentrée sous pression réduite puis chromatographiée sur gel de silice (CH₂Cl₂/MeOH : 92/8) pour fournir 50 mg (38 %) de 26.

Caractéristiques :

CCM : CH₂Cl₂/MeOH : 90/10 ; R_f = 0,33

[α]_D20 = - 90° (c = 0,5 ; CHCl₃)

- 15

SM : m/z 530 (M + H)⁺

P_f = 140°C

C₂₇H₃₁NO₁₀ M = 529

Préparation du chlorhydrate

A l'amine 26 (70 mg ; 0,14 mmol) précédente en solution dans du méthanol anhydre (6 ml) est ajoutée une solution de méthanol chlorhydrique 0,098 M (1,44 ml ; 20 0,14 mmol). Le milieu réactionnel est agité durant 10 minutes. Le produit attendu est précipité après addition d'éther (20 ml). On recueille 40 mg (53 %) de chlorhydrate cristallisé.

Caractéristiques :

P_f = 164°C

- 25

C₂₇H₃₂NO₁₀Cl M = 565

Essai de solubilité : 2,6 mg dans 0,2 ml d'eau

C = 0,02 M

EXAMPLE 9

Formule générale I : NR₁R₂ = α-NH₂ ; X = OH ; Y = CH₂NH₂

- 30 4'-Déméthyl-4-O-(3,6-diamino-2,3,6-tridésoxy-β-D ribohexopyranosyl) épipodo-

phyllotixine (composé 29)

Stade 1

4'-Déméthyl-4'-benzyloxycarbonyl-4-O(3,6-diazido-4-azidoacétyl-2,3,6-tridesoxy- β -D-ribo-hexopyranosyl)épipodophyllotoxine (composé 27)

5 A une solution de 24 (0,45 g ; 0,51 mmol) obtenu au stade 4 de l'exemple 8 dans 10 ml de diméthylformamide est ajouté de l'azoture de sodium (0,1 g ; 1,5 mmol). Le milieu réactionnel est agité durant 64 h à température ambiante, dilué par de l'eau (30 ml) et de l'acétate d'éthyle (30 ml). La phase organique est lavée par de l'eau (4 x 20 ml), séchée sur MgSO₄, concentrée sous pression réduite et chromatographiée sur 10 gel de silice (cyclohexane/AcOEt : 7/3) pour fournir 0,36 g de 27 (90 %).

Caractéristiques : CCM : cyclohexane/AcOEt : 6/4 ; R_f = 0,44

[α]_D²⁰ = - 64° (c = 1 ; CHCl₃)

SM : m/z 831 (M + NH₄)⁺

P_f = 120°C

15 C₃₇H₃₅N₉O₁₃ M = 813

Stade 2

4'-Déméthyl-4'-benzyloxycarbonyl-4-O(3,6-diazido-2,3,6-tridesoxy- β -D-ribo-hexopyranosyl) épipodophyllotoxine (composé 28)

A une solution de l'azido-glycoside 27 (70 mg ; 0,08 mmol) dans 3 ml d'un 20 mélange CH₂Cl₂/MeOH (2/1, v/v) est ajoutée de la résine OH⁻ (Amberlite IRA 410). Après réaction durant 5 h à 20°C, le milieu réactionnel est filtré puis concentré sous pression réduite pour fournir 59 mg de 28 pur (94 %).

Caractéristiques : CCM : cyclohexane/AcOEt : 6/4 ; R_f = 0,25

[α]_D²⁰ = - 53° (c = 1,04 ; CHCl₃)

P_f = 125°C

25 C₃₅H₃₄N₆O₁₂I M = 730

Stade 3

4'-Déméthyl-4-O(3,6-diamino-2,3,6-tridesoxy- β -D-ribo-hexopyranosyl) épipodophyllotoxine (composé 29)

30 A une solution de 28 (0,11 g ; 0,15 mmol) du stade précédent, dans un mélange

d'acétate d'éthyle et d'éthanol (10 ml, 1/1) sont ajoutés de la triéthylamine (20 µl) puis du charbon palladié à 10 % (70 mg). Après agitation durant 16 h à température ambiante en présence d'hydrogène à pression atmosphérique, le catalyseur est éliminé par filtration et la phase organique concentrée sous pression réduite pour fournir 78 mg (95 %) de 29.

Caractéristiques : CCM : CH₂Cl₂/MeOH(NH₃) : 90/10 ; R_f = 0,06
C₂₇H₃₂N₂O₁₀ M = 544

Préparation du Dichlorhydrate

10 A la di-amine 29 (78 mg ; 0,14 mmol) précédente en solution dans du méthanol anhydre (2 ml) est ajoutée une solution de méthanol chlorhydrique 0,098 M (2,92 ml ; 0,28 mmol). Le milieu réactionnel est agité durant 10 minutes. Le produit attendu est précipité après addition d'éther (20 ml). On recueille 70 mg (79 %) de dichlorhydrate cristallisé.

Caractéristiques : $P_f = 95^\circ\text{C}$
 15 $C_{27}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_{10}\text{Cl}_2$ M = 616
 Essai de solubilité : 2,1 mg dans 0,05 ml d'eau
 $C = 0,07 \text{ M}$

Expérimentation biologique

20 Les molécules ont été testées en expérimentation biologique et ont montré leur intérêt en tant qu'agent anticancéreux dans les tests de la leucémie P 388 in vivo chez la souris. Ce test est couramment utilisé dans le domaine de la recherche de substances anticancéreuses (Protocols for screening chemical agents and natural products against animal tumors and other biological systems, R. Geran, N.H. Greenberg, M.M. MacDonald, A.M. Schumacher and B.J. Abbott, Cancer Chemotherapy reports 1972, 3,
25 N° 2).

Cependant, ce modèle expérimental est extrêmement chimiosensible et de très nombreux composés manifestent une bonne activité ce qui rend ce test peu discriminant.

Nous avons modifié le protocole du test pour le rendre plus sélectif.
30 L'administration des cellules tumorales se fait par voie intraveineuse et non par voie

intrapéritonéale. Elles se disséminent ainsi par la circulation dans tout l'organisme rapidement. L'administration du produit à tester est faite ensuite par voie intrapéritonéale. Deux paramètres sont définis pour mettre en évidence l'activité des composés :

- 5 • détermination de la dose efficace 50 (DE₅₀) qui représente la dose minimum unique du composé à administrer pour obtenir une survie des animaux significative par rapport aux animaux témoins non traités ;
- détermination du temps de survie maximum des animaux quelque soit la dose administrée par injection unique. Le fait de pouvoir administrer une dose importante du composé et d'observer une survie importante, permet d'obtenir une mesure de 10 l'efficacité thérapeutique maximale du produit que l'on peut atteindre.

Origine de la tumeur

La leucémie P 388 a été chimiquement induite en 1955 par le 3-méthylcholanthrène sur une souris DBA/2 (Am. J. Pathol. 33, 603, 1957).

Procédure pharmacologique

Les tumeurs sont maintenues par passages hebdomadaires sous forme d'ascite dans le péritoine de souris DBA/2 (lignée d'origine) et les expérimentations sont effectuées sur les souris femelles hybrides CDF₁ (bal b/c femelles XDBA/2 mâles) de 20 ± 2 g (Cancer chemother. Rep. 3, 9, 1972). Les cellules tumorales sont implantées par voie intraveineuse (106 cellules par souris) au jour 0. Les animaux sont randomisés et répartis par groupe de 2 pour chaque série.

Les substances antitumorales sont administrées par voie intrapéritonéale (ip) un jour après l'inoculation des cellules leucémiques (traitement aigu). Les solutions sont injectées à raison de 10 ml/kg de souris. Le critère d'évaluation de l'activité antitumorale est la prolongation de la survie des animaux traités. 86 % des souris meurent le 7ème jour après la greffe tumorale. Une substance sera considérée comme active si elle induit une survie supérieure à 8 jours.

30 Le tableau suivant permet de mettre en évidence la solubilité aqueuse des

produits de l'invention, exprimée en mg/ml, l'activité de ces composés en terme de DE₅₀, de survie exprimée en jours ou en T/C %, qui représente le rapport entre la survie moyenne du groupe d'animaux traités et la survie moyenne du groupe des animaux contrôle.

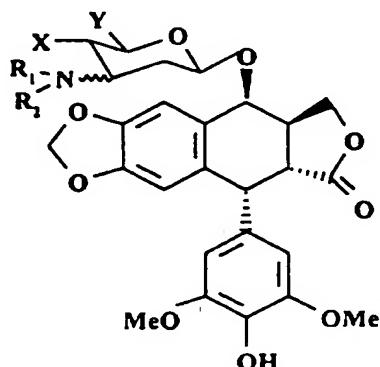
5

	Solubilité aqueuse mg/ml	P 388 DE ₅₀ (mg/kg)	Survie maximum (J)	T/C %
Animaux contrôle avec administration iv des cellules tumorales			6-8 (mediane-7)	
Composés				
Etoposide	0,01	10	19	271
Teniposide	< 0,01	20	15	214
15	13	10	21	300
11	25	10	17	242
10	7	10	14	200
20	25	20	18	257

Il apparaît ainsi que les composés de l'invention ont conservé le niveau d'activité des composés de référence comme l'Etoposide et ont en plus l'avantage d'avoir une solubilité aqueuse avantageuse pour la formulation et l'administration.

REVENDICATIONS

1) Un composé de formule générale I



5

dans laquelle le groupement en 3" N(R₁ R₂) est en position β (série 2-desoxy D Arabino) ou α (série 2-desoxy D ribo) par rapport au cycle, R₁ et R₂ identiques ou différents représentent un atome d'hydrogène, un groupe alkyle de C₁ à C₆, pouvant former un cycle, ce cycle pouvant comporter un hétéroatome comme un oxygène ou un azote, un groupe aminoalkyle en C₁ à C₆ ou cyanométhyle,
 10 X et Y peuvent être identiques ou différents et représentent un OH, CH₃, CH₂-NH₂, X et Y peuvent également être liés et constituer un cycle, comme par exemple, un 2-méthyl 1,3 dioxane, formant ainsi un squelette bicyclique osidique de type 4,6-éthylidène 3 amino 2,3 didesoxy glycoside, et ses sels d'addition avec des acides minéraux ou organiques, pharmaceutiquement acceptables.

2) Un composé de formule générale I selon la revendication 1, caractérisé en ce que le groupe NR₁R₂ est un groupement NH₂ ou N(CH₃)₂.

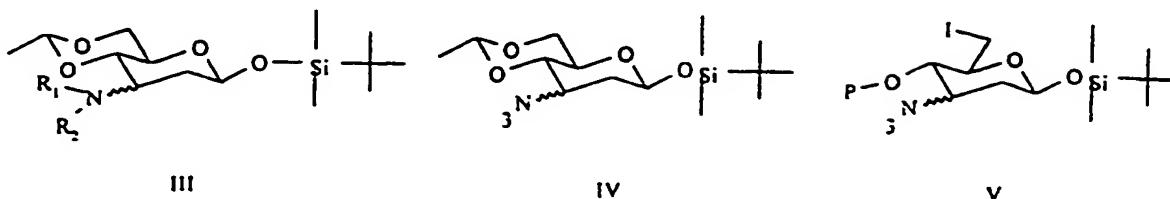
20

3) Un composé de formule générale I selon la revendication 1, caractérisé en ce que le groupe NR₁R₂ représente un groupe amino substitué, une ou deux fois par un méthyl, CH₂CN ou un CH₂-CH₂-NH₂.

4) Un composé de formule générale I selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que X et Y forment un cycle avec un enchaînement $OCH(CH_3)OCH_2$.

5) Un composé de formule générale I selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi les composés suivants :

- 4'-Déméthyl-4-0(3-amino-4,6-éthylidène-2,3-didésoxy- β -D-arabinohexopyranosyl) épipodophyllotoxine,
 - 4'-Déméthyl-4-0(3-amino-4,6-éthylidène-2,3-didésoxy- β -D-ribohexopyranosyl) épipodophyllotoxine,
 - 10 • 4'-Déméthyl-4-0(3-diméthylamino-4,6-éthylidène-2,3-didésoxy- β -D-arabino-hexopyranosyl) épipodophyllotoxine,
 - 4'-Déméthyl-4-0(3-diméthylamino-4,6-éthylidène-2,3-didésoxy- β -D-ribo-hexopyranosyl) épipodophyllotoxine,
 - 4'-Déméthyl-4-0(3-cyanométhylamino-4,6-éthylidène-2,3-didésoxy- β -D-ribo-hexopyranosyl) épipodophyllotoxine,
 - 15 • 4'-Déméthyl-4-0(3-(N-morpholino)-4,6-éthylidène-2,3-didésoxy- β -D-ribo-hexopyranosyl) épipodophyllotoxine,
 - 4'-Déméthyl-4-0[3(2-aminoéthylamino)-4,6-éthylidène-2,3-didésoxy- β -D-ribo-hexopyranosyl] épipodophyllotoxine,
 - 20 • 4'-Déméthyl-4-0(3-amino-2,3,6-tridésoxy- β -D-ribohexopyranosyl) épipodophyllotoxine,
 - 4'-Déméthyl-4-0(3,6-diamino-2,3,6-tridésoxy- β -D-ribohexopyranosyl) épipodophyllotoxine.
- 25 6) Composés selon la revendication 4, caractérisés en ce qu'ils se présentent sous forme de chlorhydrates.
- 7) Procédé de préparation d'un composé de formule générale I selon les revendications 1 à 4, caractérisé en ce que l'on fait réagir un composé de formule III ou
30 IV ou V



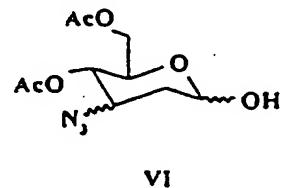
avec la 4'-Déméthyl 4'-benzyloxycarbonyl épipodophyllotoxine avec l'éthérate de BF_3 ,
5 ou le triméthyl silyl trifluorométhanesulfonate dans un solvant inerte à basse température ;

dans la formule III et IV, le substituant en position 3 peut être α ou β , NR_1R_2 peut être un amino protégé par un groupe Z,

10 dans la formule V, P représente un groupe protecteur d'alcool et les produits résultants de cette condensation sont déprotégés et hydrogénés pour fournir les composés de formule I ,

les amines primaires en position 3 du glycosyl sont méthylées par le formol et le cyanoborohydrure de sodium.

15 8) Procédé de préparation d'un composé de formule IV caractérisé en ce que l'on fait réagir un mélange de diacétoxy azido glycoside VI



20 avec le chlorure de tertbutyl diméthylsilyl en présence d'imidazole, en ce que l'on sépare les produits résultant de cette réaction, en ce que chacun de ces produits sont déacétylés, cyclisés en 4,6-éthylidène avec l'acétal de l'acetaldehyde en milieu acide catalytique.

25 9) A titre de médicament les composés de formule I selon les revendications 1 à 6.

10) Les compositions pharmaceutiques caractérisées en ce qu'elles contiennent au moins un composé de formule I selon l'une des revendications 1 à 6 et un excipient approprié.

5

11) Utilisation d'un composé de formule I, selon l'une des revendications 1 à 4, pour la préparation d'un médicament destiné au traitement anticancéreux et, en particulier, pour traiter les formes de cancer, comme par exemple, le cancer du poumon à petites cellules, le cancer des testicules, les tumeurs embryonnaires, les neuroblastomes, le cancer du rein, les choriocarcinomes placentaires, les adénocarcinomes mammaires, les cancers colorectaux, les mélanomes, les lymphomes Hodgkiniens et non Hodgkiniens et les leucémies aiguës.

10

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Application No. :

U.S. National Serial No. :

Filed :

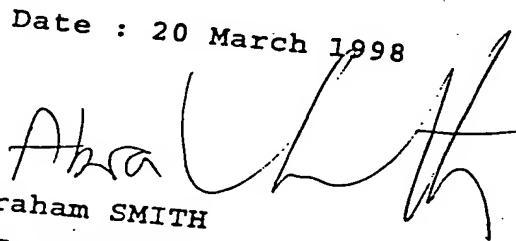
PCT International Application No. : PCT/FR96/01588

VERIFICATION OF A TRANSLATION

I, the below named translator, hereby declare that :
My name and post office address are as stated below ;
That I am knowledgeable in the French language in which the
below identified international application was filed, and that,
to the best of my knowledge and belief, the English translation
of the international application No. PCT/FR96/01588 is a true
and complete translation of the above identified international
application as filed.

I hereby declare that all the statements made herein of my own
knowledge are true and that all statements made on information
and belief are believed to be true; and further that these
statements were made with the knowledge that wilful false
statements and the like so made are punishable by fine or
imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the
United States Code and that such wilful false statements may
jeopardize the validity of the patent application issued
thereon.

Date : 20 March 1998



Full name of the translator : Abraham SMITH
For and on behalf of RWS Translations Ltd.

Post Office Address :

Europa House, Marsham Way,
Gerrards Cross, Buckinghamshire,
England.

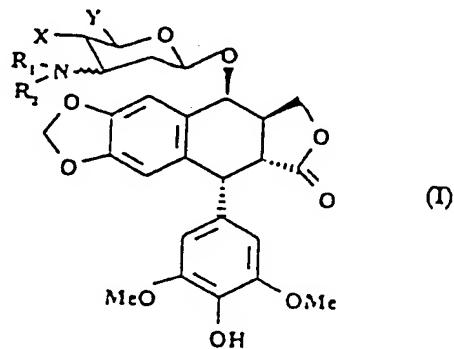
PCT WORLD ORGANISATION FOR INTELLECTUAL PROPERTY
 International Office
 INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International patent classification ⁶ : C07H 17/04, A61K 31/70	A2	(11) International publication number: WO 97/13776 (43) International publication date: 17 April 1997 (17.04.97)
(21) International application number: PCT/FR96/01588		(81) Designated States: AU, BR, CA, CN, JP, KR, MX, NZ, US, European Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
(22) International filing date: 11 October 1996 (11.10.96)		
(30) Data relating to the priority: 95/11.978 12 October 1995 (12.10.95)	FR	Published Without the International Search Report, will be republished once this report has been received.
(71) Applicant (for all designated States except US): PIERRE FABRE MEDICAMENT [FR/FR]; 45, place Gance, F-92100 Boulogne-Billancourt (FR).		
(72) Inventors; and		
(75) Inventors/Applicants (US only): Claude MONNERET [FR/FR]; 9, avenue Lamoricière, F-75012 Paris (FR). Laurent DALEY [FR/FR]; 21, rue Brézin, F-75014 Paris (FR). Yves GUIMINSKI [FR/FR]; 17, rue Jacques-Prévert, F-81090 Lagarrigue (FR). Thierry IMBERT [FR/FR]; 16, route de Saïx, F-81290 Viviers-les-Montagnes (FR). Bridget HILL [GB/FR]; 10, rue Halbec, F-81100 Castres (FR).		
(74) Representatives: Jean-Jacques MARTIN etc.; Cabinet Regimbeau, 26, Avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).		

As printed

(54) Title: NOVEL AMINE DERIVATIVES OF EPIPODOPHYLLOTOXIN 2", 3"-DIDEOXYGLYCOSIDES. PREPARATION METHOD THEREFOR AND USE THEREOF AS A DRUG AND FOR TREATING CANCER

(54) Titre: NOUVEAUX DERIVES AMINES DE 2", 3"-DIDEOXYGLYCOSIDES D'EPIPOTOPHYLLOTOXINE, LEUR PROCEDE DE PREPARATION, LEUR UTILISATION COMME MEDICAMENT ET LEUR UTILISATION DESTINEE AUX TRAITEMENTS ANTICANCEREUX



(57) Abstract

A compound of general formula (I), wherein X, Y, R₁ and R₂ are as defined in the description, a preparation method therefor and the use thereof as a drug and for treating cancer, are disclosed.

(57) Abrégé

L'invention concerne un composé de formule générale (I), X, Y, R₁ et R₂ étant définis dans la description, leur procédé de préparation, leur utilisation comme médicament et leur utilisation destinée aux traitements anticancéreux.

ONLY FOR INFORMATION

Codes used to identify the PCT member States on the flyleaves of the brochures in which international applications made under the PCT are published.

AT	Armenia	KZ	Kazakhstan
AT	Austria	LI	Liechtenstein
AU	Australia	LK	Sri Lanka
BB	Barbados	LR	Liberia
BE	Belgium	LT	Lithuania
BF	Burkina Fasso	LU	Luxembourg
BG	Bulgaria	LV	Latvia
BJ	Benin	MC	Monaco
BR	Brazil	MD	Republic of Moldova
BY	Belarus	MG	Madagascar
CA	Canada	ML	Mali
CF	Central African Republic	MN	Mongolia
CG	Congo	MR	Mauritania
CH	Switzerland	MW	Malawi
CI	Ivory Coast	MX	Mexico
CM	Cameroon	NE	Niger
CN	China	NL	Netherlands
CS	Czechoslovakia	NO	Norway
CZ	Czech Republic	NZ	New Zealand
DE	Germany	PL	Poland
DK	Denmark	PT	Portugal
EE	Estonia	RO	Romania
ES	Spain	RU	Russian Federation
FI	Finland	SD	Sudan
FR	France	SE	Sweden
GA	Gabon	SG	Singapore
GB	United Kingdom	SI	Slovenia
GE	Georgia	SK	Slovakia
GN	Guinea	SN	Senegal
GR	Greece	SZ	Swaziland
HU	Hungary	TD	Chad
IE	Ireland	TG	Togo
IT	Italy	TJ	Tajikistan
JP	Japan	TT	Trinidad and Tobago
KE	Kenya	UA	Ukraine
KG	Kyrgyzstan	UG	Uganda
KP	Democratic People's Republic of Korea	US	United States of America
KR	Republic of Korea	UZ	Uzbekistan
		VN	Vietnam

**Novel amine derivatives of epipodophyllotoxin
2",3"-dideoxyglycosides, preparation method therefor
and use thereof as a drug and for anticancer treatments**

The present invention relates to novel amino
5 derivatives of epipodophyllotoxin 2",3"-dideoxyglyco-
sides, the method for preparing them, their use as a drug
and their use for anticancer treatments.

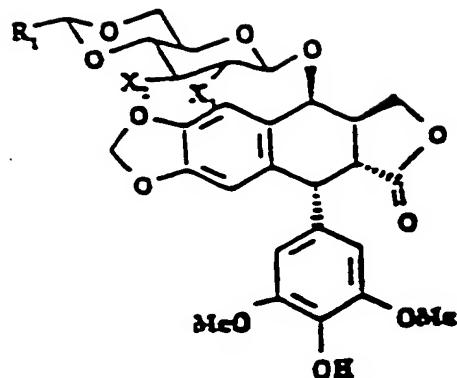
The class of epipodophylloids, having the basic
podophyllotoxin backbone, is among the derivatives
10 derived from natural lignans. Among them are the semi-
synthetic derivatives such as Etoposide or Teniposide
which are customarily used in the preparation of drugs
for the treatment of cancer. They are considered as major
products in this field.

15 Etoposide has antitumor properties and makes it
possible to treat, in particular, small cell lung cancer
and cancer of the testicles.

The disadvantage of these products is their lack
of solubility in water and they consequently encounter
20 difficulties in terms of formulation and administration.

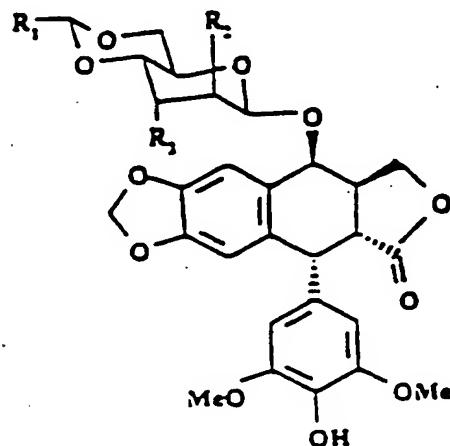
The object of the present invention is to show
that 4'-demethylepipodophyllotoxin derivatives posses-
sing, at the 4-position, a substitution of the 2"-deoxy-
glycoside structure, makes it possible, by the incor-
25 poration of one or more nitrogens, to form compounds
whose addition salts possess aqueous solubility making it
possible to address the problem and show the desired
anticancer activity.

Patent EP-0,196,618 describes water-soluble
30 derivatives of 4'-demethylepipodophyllotoxin of formula:



where $R_1 = Me$, $X_1 = NH_2$, NMe_2 , $X_2 = OH$

Patent EP-0,415,453 mentions β -D-altroside derivatives of 4'-demethylepipodophyllotoxin of formula



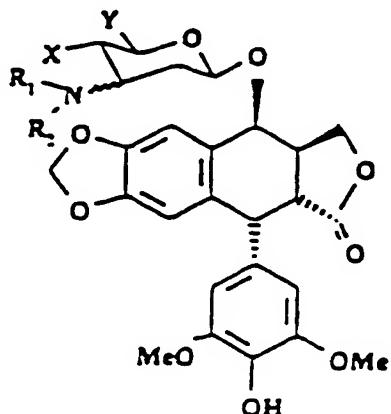
where $R_1 = Me$ $R_2 = OH$ and NH_2 or F and NH_2 as well as
5 JP 0,161,423.

Other publications mention similar derivatives (Carbohydr. Res. 1990, 206, 219; Chem. Pharm. Bull. 1986, 34, 3733; Chem. Pharm. Bull 1986, 34, 3741; Chem. Lett. 1987, 799).

- 10 The fact that a glycoside having a 2"-deoxy position is used is quite special. It makes it possible to obtain compounds which are more lipophilic than hydroxylated analogs and, consequently, to have a broadened antitumor activity spectrum. This allows them
15 to have better membrane penetration and to be able more easily to reach the biological target such as, for example, solid tumors which are not highly irrigated. In addition, the advantage of having an amino functional

group, for example, in the 3"-position confers a possibility of salification and therefore of water-solubility which is sufficient for a better formulation and a better administration.

- 5 The present invention therefore relates to a compound of general formula I



I

- in which the group in 3" $N(R_1R_2)$ is in the β -position (2-deoxy-D-Arabino series) or α -position (2-deoxy-D-ribo series) in relation to the ring, R_1 and R_2 which are identical or different, represent a hydrogen atom, a C_1 to C_6 alkyl group, capable of forming a ring, it being possible for this ring to contain a heteroatom such as oxygen or nitrogen, a C_1 to C_6 aminoalkyl group or a cyanomethyl group.

- 15 X and Y may be identical or different and represent OH , CH_3 , CH_2-NH_2 , X and Y may also be linked and may constitute a ring, such as for example a 2-methyl-1,3-dioxane, thus forming a bicyclic glycoside backbone of the 4,6-ethylidene-3-amino-2,3-dideoxy- β -D-arabino- or -ribo-hexo pyranoside.

It also relates to their addition salts with inorganic or organic acids salifying the nitrogen atom(s), in particular the hydrochlorides.

- 20 Advantageously, the NR_1R_2 group is an NH_2 or $N(CH_3)_2$ group.

The NR_1R_2 group may also be an amino group substituted once or twice with a methyl, CH_2CN , $CH_2-CH_2-NH_2$,

to form a ring such as morpholine.

Advantageously, the compounds of general formula I are chosen with a glycoside for which X and Y form a ring with an $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{OCH}_2$ linkage, such as 4,6-ethylidene-3-amino-2,3-dideoxy- β -D-arabino-hexopyranoside or 4,6-ethylidene-3-amino-2,3-dideoxy- β -D-ribo-hexopyranoside.

In particular, the compounds according to the invention are selected from the following compounds:

- 10 • 4'-demethyl-4-O(3-amino-4,6-ethylidene-2,3-dideoxy- β -D-arabinohexopyranosyl)epipodophyllotoxin,
- 4'-demethyl-4-O(3-amino-4,6-ethylidene-2,3-dideoxy- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin,
- 4'-demethyl-4-O(3-dimethylamino-4,6-ethylidene-2,3-dideoxy- β -D-arabinohexopyranosyl)epipodophyllotoxin,
- 15 • 4'-demethyl-4-O(3-dimethylamino-4,6-ethylidene-2,3-dideoxy- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin,
- 4'-demethyl-4-O(3-cyanomethylamino-4,6-ethylidene-2,3-dideoxy- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllo-
- 20 toxin,
- 4'-demethyl-4-O(3-(N-morpholino)-4,6-ethylidene-2,3-dideoxy- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin,
- 4'-demethyl-4-O[3(2-aminoethylamino)-4,6-ethylidene-2,3-dideoxy- β -D-ribohexopyranosyl]epipodophyllo-
- 25 toxin,
- 4'-demethyl-4-O(3-amino-2,3,6-trideoxy- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin,
- 4'-demethyl-4-O(3,6-diamino-2,3,6-trideoxy- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin.

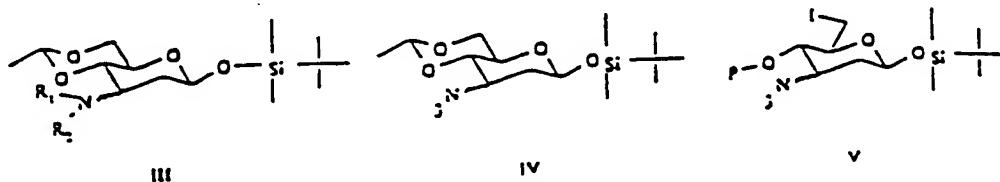
30 The present invention also relates to the pharmaceutical compositions comprising at least one compound of general formula I according to the invention and an appropriate excipient.

The pharmaceutical compositions may be provided 35 in an appropriate manner by administration by the injectable route or by the oral route in the form of a capsule, gelatin capsules or tablets at the dosage of 1 to 200 mg/m² by the injectable route and of 5 to 500 mg/m² by the oral route per period of 24 h.

These derivatives can thus be administered in human clinical medicine to treat various forms of cancer such as small cell lung cancer, cancer of the testicles, embryonic tumors, neuroblastomas, kidney cancer, 5 Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas, acute leukemias, colorectal cancers, melanomas, placental choriocarcinomas and mammary adenocarcinomas.

The present invention also relates to the methods for preparing the compounds of formula I as well as their 10 addition salts with pharmaceutically acceptable inorganic or organic acids.

The present invention therefore relates to the methods for preparing the compounds of general formula I according to the invention, in which a compound of 15 formula III or IV or V



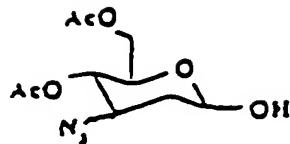
is reacted with 4'-demethyl-4'-benzyloxycarbonylepipodophyllotoxin with BF₃ etherate, or trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate in an inert solvent at low temperature;

20 in formula III and IV, the substituent at the 3-position may be α or β , NR₁R₂ may be an amino protected with a group Z,

25 in formula V, P represents an alcohol-protecting group and the resulting products of this condensation are deprotected and hydrogenated to give the compounds of formula I,

the primary amines in the 3-position of the glycosyl are methylated with formalin and sodium cyanoborohydride.

30 The intermediate of formula IV is prepared by reacting a mixture of diacetoxazidoglycoside VI

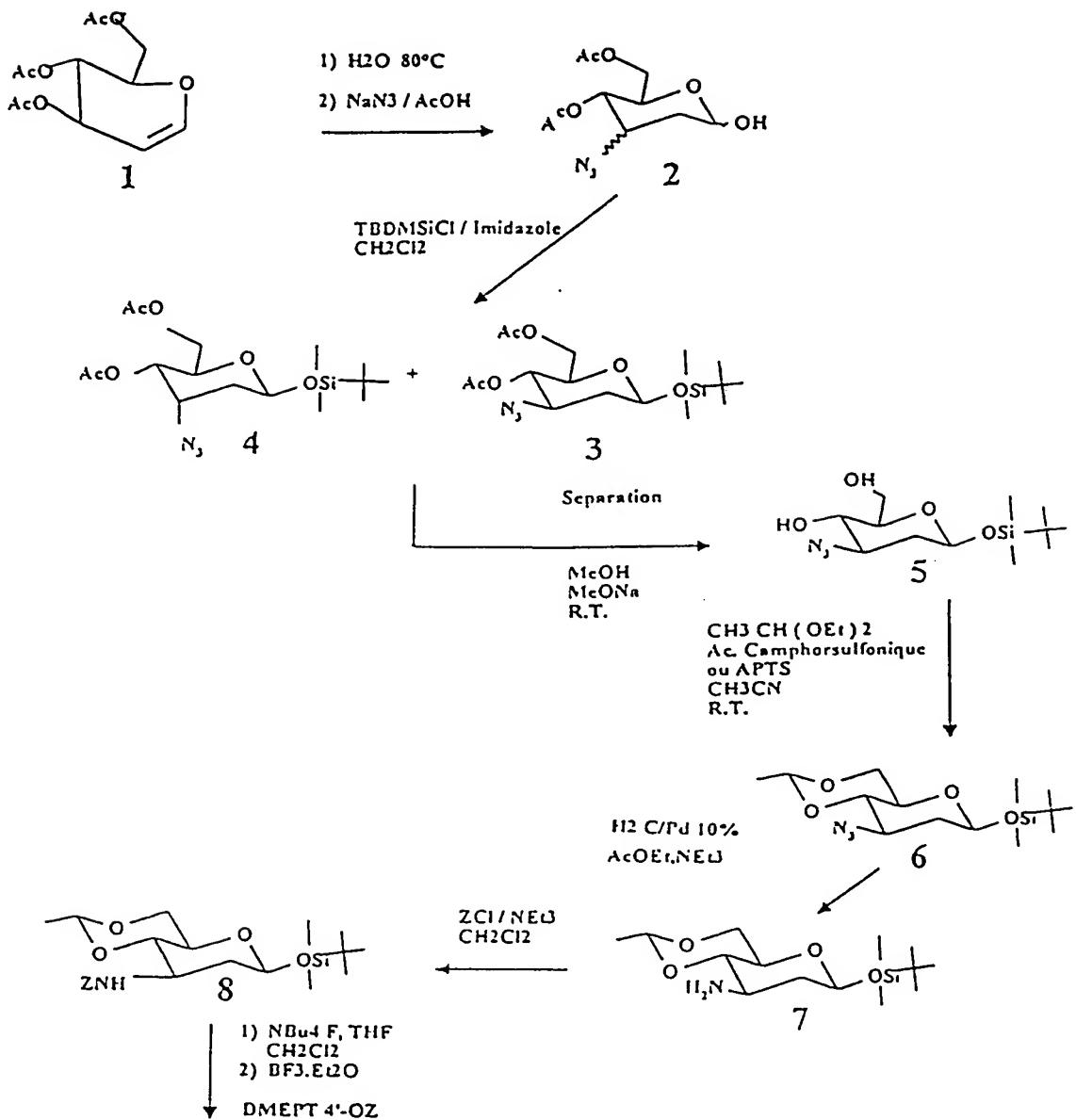


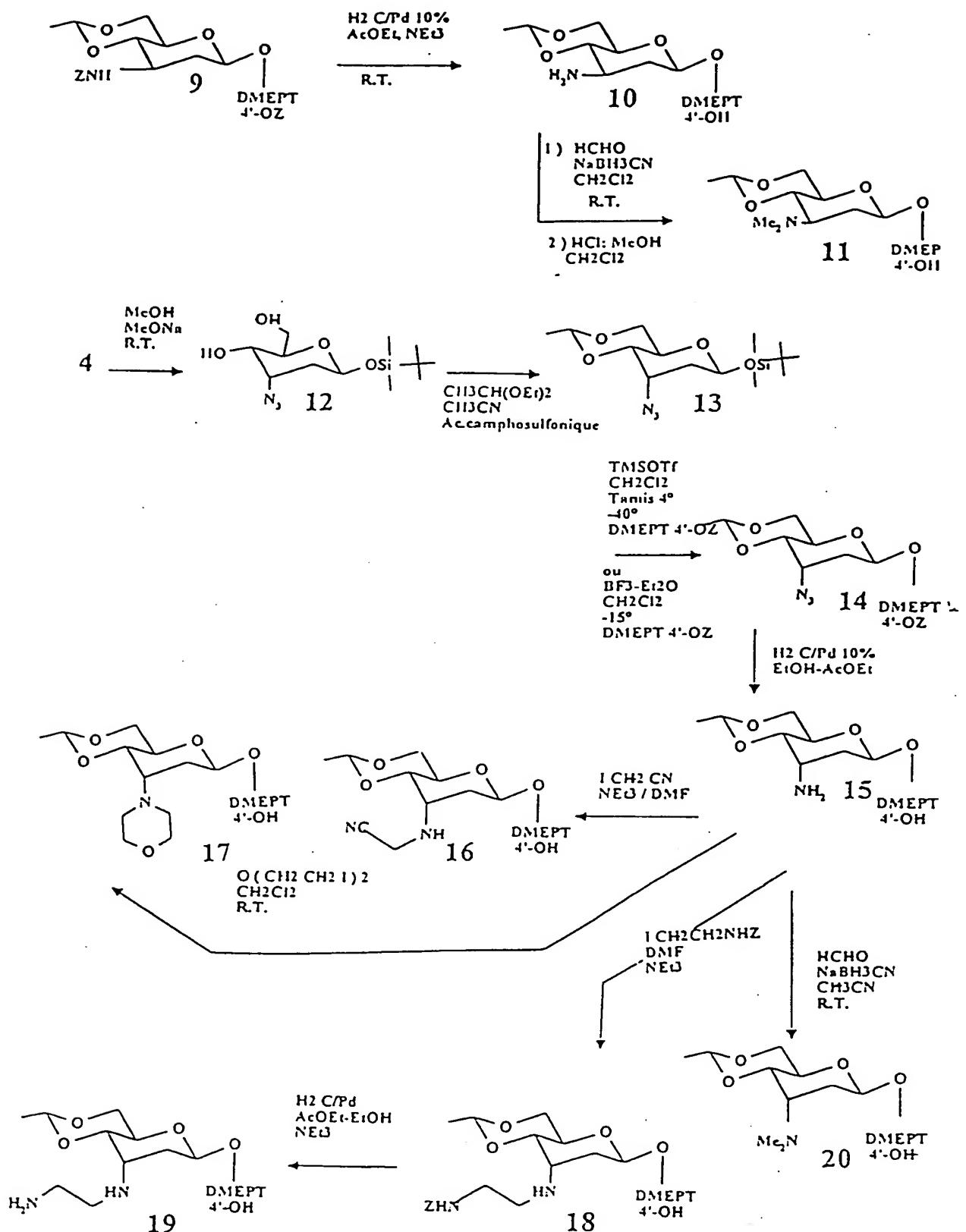
VI

with tert-butyldimethylsilyl chloride in the presence of imidazole, in that the products resulting from this reaction are separated, in that each of these products are deacetylated, cyclized to 4,6-ethylened with 5 acetaldehyde acetal in a catalytic acid medium.

Other characteristics of the process according to the invention will emerge in the light of the following description, in particular of the method of synthesis reported in Scheme 1.

SCHEME 1





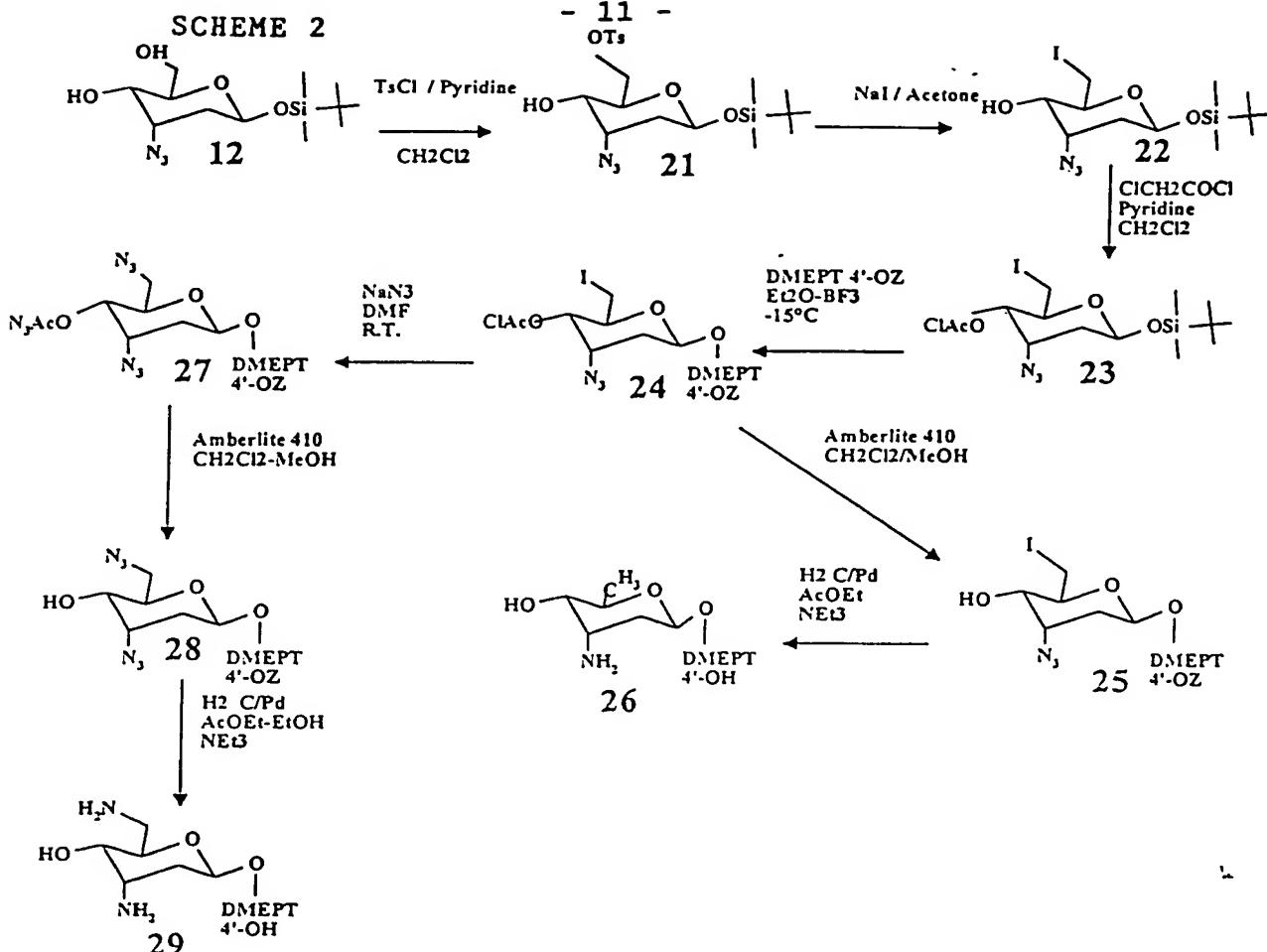
It is carried out according to a methodology which has been described (J. C. Florent and C. Monneret, J. Chem. Soc. Chem. Comm. 1987, 1171 and B. Abbaci, J. C. Florent and C. Monneret, Bull. Soc. Chim. Fr. 1989, 5 667) from glucal 1. The azide ion is condensed to give a glycoside intermediate 2 whose anomeric OH is protected with a silyl group exclusively in the β -position according to the technique which has been described (C. Kolar and G. Kneissl Angew. Chem. Int. Ed 29, 809 (1990)) to 10 give the mixture of 2 epimeric azides: 3 and 4 which can be chromatographically separated at this stage. By basic deacetylation in the presence of sodium methoxide, the diols at the 4,6-position are obtained: compounds 5 and 15 12. The β azide diol compound 5 is cyclized to ethylidene conventionally with the aid of acetaldehyde acetal using acid catalysis to give the compound 6 whose azide is reduced to an amine 7 so as to be protected with a benzyloxycarbonyl group (Z) in compound 8, which is necessary to carry out the coupling with demethylepipodophyllotoxin, itself protected on its phenol in 4' with a 20 benzyloxycarbonyl group, this intermediate will be called DMEPT4'-OZ. This coupling is carried out, in a first instance, by cleaving the protective silyl with F^- ions, followed by treatment with BF_3 etherate at low temperature 25 in the same medium. Deprotection of the Z groups by hydrogenolysis provides compound 10 of general formula I ($NR_1R_2 = \beta NH_2$; $XY = OCH(CH_3)OCH_2$). Compound 11 of general formula I ($NR_1R_2 = \beta NMe_2$; $XY = OCH(CH_3)OCH_2$) is obtained by methylation of the preceding primary amine by the 30 action of formalin and sodium cyanoborohydride.

The α azide glycoside intermediate 12 follows the same sequence of reactions as its epimer and provides, in an identical manner, the derivative from the coupling with DMEPT4'OZ starting with the α 3" azide 13; in this 35 case, the coupling is carried out more easily by two techniques.

The first technique consists in treating the ribohexopyranoside derivative 13 with trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate (TMSOTf) at $-40^\circ C$ in CH_2Cl_2 .

The second technique consists in using BF_3 etherate in CH_2Cl_2 at -15°C . The intermediate obtained 14 is then catalytically reduced to give 15 corresponding to the general formula I where $\text{NR}_1\text{R}_2 = \alpha\text{NH}_2$ and 5 $\text{XY} = \text{OCH}(\text{CH}_3)\text{OCH}_2$. The same methylation as for the βNH_2 compound 10, using formalin and cyanoborohydride, leads to the corresponding dimethylamino derivative: general formula I ($\text{NR}_1\text{R}_2 = \alpha\text{NMe}_2$; $\text{XY} = \text{OCH}(\text{CH}_3)\text{OCH}_2$). Using the primary amine 15, it is possible to alkylate the nitrogen 10 with a halogenated derivative such as iodoacetonitrile under weakly basic conditions with triethylamine in DMF and give the derivative 16 of general formula I where $\text{NR}_1\text{R}_2 = \alpha\text{NHCH}_2\text{CN}$; $\text{XY} = \text{OCH}(\text{CH}_3)\text{OCH}_2$. In the same manner, 15 the derivative 17 is obtained by forming the morpholine ring by cyclization of the diiodinated ether on the same primary amine intermediate 15. The same alkylation with the iodoethylamine protected by a group Z on compound 15 gives the derivative 18 which is catalytically reduced to 19, a diamino derivative corresponding to the general 20 formula I with $\text{NR}_1\text{R}_2 = \alpha\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$; $\text{XY} = \text{OCH}(\text{CH}_3)\text{OCH}_2$.

The compounds of formula I where XY does not form a ring are obtained in the following manner represented in Scheme 2:



The silylated α azide 12 is selectively tosylated with tosyl chloride in pyridine to 21, the tosylate of the primary alcohol is exchanged to an iodo derivative 22. At

- 5 this stage, the secondary alcohol in the 4-position is protected by a chloroacetate to give the functionalized 2-deoxysugar 23 ready to be condensed with DMEPT 4'-OZ under the customary conditions with BF_3 etherate in methylene chloride at low temperature. The intermediate 24 obtained makes it possible, by passing over the amberlite IRA410 resin treated in a basic medium, to deprotect the chloroacetate group into compound 25 and final catalytic hydrogenation makes it possible, in one step, to reduce the azide functional group to an α 3"-amino, to deprotect the Z functional group at the 4"-position and to reduce the 6" carbon to methyl in order to provide the derivative 26 corresponding to the general formula I where $\text{NR}_1\text{R}_2 = 3'' \alpha \text{NH}_2$; $X = \text{OH}$; $Y = \text{CH}_3$. The intermediate 24 obtained above can react with the azide 20 - ion in DMF at room temperature to give 3" α N₃, 6"-N₃

containing an azidoacetate at the 4"-position 27, which can be cut into a 4" alcohol by a treatment similar to the preceding one: passage over Amberlite IRA 410 exchange resin to give the diazidoalcohol 28. The final 5 catalytic reduction step makes it possible to obtain the diamino derivative 29 corresponding to the general formula I (where $\text{NR}_1\text{R}_2 = 3''\alpha\text{NH}_2$; X = OH; Y = CH_2NH_2). The salts formed from the nitrogenous compounds are, for example, hydrochlorides and are conventionally formed by 10 treating a methanolic solution of the nitrogenous compound with a stoichiometric, in relation to the sites to be salified, solution of hydrochloric methanol previously prepared. The crystallized hydrochloride can be optionally obtained by precipitation in the reaction 15 medium by addition of ethyl ether.

The following examples are given as a guide and to illustrate the various steps of the synthesis, but with no limitation being implied.

EXAMPLE 1

20 General formula I: $\text{NR}_1\text{R}_2 = \beta\text{NH}_2$; XY = $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{OCH}_2$
4'-Demethyl-4-O(3-amino-2,3-dideoxy-4,6-ethyldene- β -D-arabinohexopyranosyl)epipodophyllotoxin (compound 10)

Step 1

A solution of tri-O-acetyl-D-glucal 1 (50 g; 25 183 mmol) in water (400 ml) is heated for 3 h at 80°C. The reaction medium is then cooled to 20°C before addition of sodium azide (17.9 g; 275 mmol) and acetic acid (38 ml; 600 mmol). After stirring at room temperature for 30 24 h, the medium is neutralized with NaHCO_3 (salt). The phase is extracted with ethyl acetate (3×500 ml). The organic phases are combined, dried over MgSO_4 and then concentrated under reduced pressure. This gives 51 g of crude product 2 immediately treated as follows.

Characteristics: TLC: cyclohexane/AcOEt: 1/1; $R_f = 0.43$

35 $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_6\text{M} = 273$

Step 2

Tert-butyldimethylsilyl-3-azido-2,3-dideoxy-4,6-di-O-acetyl- β -D-arabinohexopyranoside 3 and tert-butyldimethylsilyl-3-azido-2,3-dideoxy-4,6-di-O-acetyl- β -D-

ribohexopyranoside 4

6 g of imidazole (87.8 mmol) and 13.24 g of tert-butyldimethylsilyl chloride (87.8 mmol) are added successively, under argon, to a solution of the crude mixture 5 2 (16.1 g; 58 mmol) obtained in step 1 in anhydrous dichloromethane (200 ml) previously cooled to 0°C. After stirring for 15 min at 0°C and 19 h at 20°C, the reaction medium is poured into 500 ml H₂O. The aqueous phase is extracted with CH₂Cl₂ (200 ml) and then after drying over 10 MgSO₄, the organic phase is concentrated under reduced pressure and the residue (18.7 g) is chromatographed on a silica gel (cyclohexane/AcOEt: 9/1). 10.7 g of 3 (syrup; 48%) and 4.7 g of 4 (syrup; 21%) are thus isolated; whereas intermediate fractions contain a 15 mixture of 3 and 4 (3.3 g; 15%).

Characteristics: 3 TLC: cyclohexane/AcOEt: 4/1

R_f = 0.45

[α]_D²⁰ = -10° (c = 1.4; CHCl₃)

MS: m/z 405 (M+NH₄)

20 C₁₆H₂₉N₃O₆SiM = 387

4 R_f = 0.52

[α]_D²⁰ = +10° (c = 1; CHCl₃)

MS: m/z 405 (M+NH₄) +

C₁₆H₂₉N₃O₆SiM = 387

25 ¹H NMR 300 MHz CDCl₃ δ

Derivative 3:

0.13 (3H, s, SiCH₃); 0.14 (3H, s

SiCH₃); 0.92 (9H, s, tBu); 1.72

(1H, m, J_{2a-1} = 9.5 Hz, J_{2a-2e} =

12.5 Hz, J_{2a-3} = 12.5 Hz, H_{2a})

2.05 (3H, s, COCH₃); 2.15 (3H,

s, COCH₃); 2.25 (1H, ddd, J_{2e-1} =

1.5 Hz, J_{2e-2a} = 12.5 Hz, J_{2e-3} =

4.5 Hz, H_{2e}); 3.55 - 3.62 (2

H, m, H₃ and H₅); 4.10 (1H, dd,

J₆₋₅ = 2.5 Hz, H₆); 4.20 (1H,

dd, J₆₋₅ = 6 Hz, J₆₋₆ = 12 Hz,

H₆); 4.86 (1H, t, J = 9.5 Hz,

H₄); 4.86 (1H, dd, J_{1-2a} =

9.5 Hz, J_{1-2e} = 1.5 Hz, H₁).

30

35

Derivative 4: 0.1 (6H, s, Si(CH₃)₂); 0.88 (9H, s, tBu); 1.64 (1H, ddd, J_{2a-2e} = 14 Hz, J_{2a-1} = 8.5 Hz, J_{2a-3} = 3.5 Hz, H_{2a}); 2.03 (1H, ddd, J_{2e-2a} = 14 Hz, J_{2e-1} = 2 Hz, J_{2e-3} = 4 Hz, H_{2e}); 2.05 (3H, s, COCH₃); 2.13 (3H, s, COCH₃); 4.05 - 4.12 (1H, m, H₅); 4.17 - 4.22 (3H, m, H₃, H₆ and H_{6'}); 4.89 (1H, dd, J₄₋₅ = 9.5 Hz, J₄₋₃ = 3.5 Hz, H₄); 5.02 (1H, dd, J_{1-2a} = 8.5 Hz, J_{1-2e} = 2 Hz, H₁).

Step 3

15 Tert-butyldimethylsilyl-3-azido-2,3-dideoxy- β -D-arabinohexopyranoside 5

A solution of 1 M sodium methoxide (1.9 ml) is added, under argon, to a solution of the derivative 3 (3 g; 7.7 mmol) obtained in step 2 in anhydrous methanol (40 ml). After reacting for 1 h 30 min at 20°C, the reaction medium is adjusted to pH = 7 by addition of H⁺ resin (amberlite IRC 50 S). The reaction mixture is filtered and the filtrate concentrated under reduced pressure, giving 2.27 g of 5 (97%).

25 Characteristics: TLC: cyclohexane/AcOEt: 2/1; R_f = 0.36
[α]_D²⁰ = -26° (c = 1; CHCl₃)
MS: m/z 304 (M + H)⁺ 321 (M + NH₄)⁺
m.p. = 70-72°C
C₁₂H₂₅N₃O₄SiM = 303

30 Step 4

Tert-butyldimethylsilyl-3-azido-2,3-dideoxy-4,6-O-ethyldene- β -D-arabinohexopyranoside (6)

0.94 ml (6.6 mmol) of acetaldehyde diethyl acetal and then 15 mg of para-toluenesulfonic acid (0.08 mmol) 35 are added to a solution of 5 (0.20 g; 0.6 mmol) obtained in step 3 in 5 ml of acetonitrile. The reaction medium is stirred at room temperature for 1 h and then diluted with ethyl acetate (20 ml) before washing with a sodium hydrogen carbonate solution (pH = 9) (20 ml) and then

with water (20 ml). The organic phase is dried over $MgSO_4$ and then concentrated under reduced pressure to give 0.25 g of crude product. Silica gel purification (cyclohexane/AcOEt: 95/5) makes it possible to isolate 0.19 g
5 of pure 6 (86%).

Characteristics: TLC: cyclohexane/AcOEt: 7/3; $R_f = 0.89$
 $[\alpha]_D^{20} = -19^\circ$ (c 1.1, $CHCl_3$)
MS: m/z 347 ($M + NH_4$)⁺
 $C_{14}H_{27}N_3O_4SiM = 329$

10	C	H	N
Calculated	51.04	8.26	12.75
Found	51.64	8.43	12.51

Step 5

15 Tert-butyldimethylsilyl-3-amino-2,3-dideoxy-4,6-O-ethylidene- β -D-arabinohexopyranoside (7)

20 50 μ l of triethylamine and then 0.5 g of 10% palladium on carbon are added to a solution of 6 (2 g; 6 mmol) obtained in step 4 in 30 ml of ethyl acetate. The reaction medium is placed under a hydrogen atmosphere (atmospheric pressure). After stirring for 6 h at room temperature, the catalyst is removed by filtration and the organic phase concentrated under reduced pressure to give 1.82 g of pure 7 (98%).

25 Characteristics: TLC: cyclohexane/AcOEt: 1/1; $R_f = 0.23$
 $[\alpha]_D^{20} = -28^\circ$ ($c = 1.3$, $CHCl_3$)
MS: m/z 304 ($M + H$)⁺
 $C_{14}H_{29}NO_4SiM = 303$

Step 6

30 Tert-butyldimethylsilyl-3-aminobenzyloxycarbonyl-2,3-dideoxy-4,6-O-ethylidene- β -D-arabinohexopyranoside (8)

35 Benzoyloxycarbonyl chloride (1.12 ml; 7.88 mmol) is added, under argon, to a solution, previously cooled to 0°C, of the acetal 7 (1.82 g; 6 mmol) obtained in step 5 in a mixture of anhydrous dichloromethane (30 ml) and anhydrous triethylamine (1.27 ml; 9.1 mmol). After stirring for 8 h, the reaction medium is poured into 100 ml H_2O and the aqueous phase is extracted with CH_2Cl_2 (100 ml). The organic phase is dried over $MgSO_4$, concentrated under reduced pressure and the residue is purified

by silica gel chromatography (cyclohexane/AcOEt: 6/1 and 4/1) so as to isolate 1.9 g of 8 (72%).

Characteristics: TLC: cyclohexane/AcOEt: 1/1; $R_f = 0.64$
 $[\alpha]_D^{20} = -27^\circ$ ($c = 1.14$; CHCl₃)

5 MS: m/z 438 (M + H)⁺

m.p. = 102°C

C₂₂H₃₅NO₆SiM = 437

	C	H	N
--	---	---	---

Calculated 60.38 8.06 3.20

10 Found 60.27 8.10 3.29

Step 7

4'-Benzylloxycarbonylepipodophyllotoxin 3-aminobenzyl oxy-carbonyl-2,3-dideoxy-4,6-O-ethylidene- β -D-arabinohexo-pyranoside (9)

15 5.06 ml of tetrabutylammonium fluoride (1.1 M solution in THF; 5.5 mmol) are added to the sugar 8 (2.0 g; 4.57 mmol) obtained in step 6 in solution in anhydrous dichloromethane (100 ml). When the complete disappearance of 8 is observed by TLC (2 h of stirring),
20 the reaction medium is cooled to -20°C. DMEPT4'-OZ (2.57 g; 4.8 mmol) and then 8.44 ml of BF₃.Et₂O (68.6 mmol) are then added successively. After reacting for 1 h at -20°C, the reaction medium is poured into 200 ml of a saturated NaHCO₃ solution (addition of NaHCO₃ salts) (pH = 9). The organic phase is dried over MgSO₄, concentrated under reduced pressure and then the crude residue (6.2 g) is chromatographed on a silica gel (CH₂Cl₂/Acetone: 98/2 and then 97/3) to give 9 (2.1 g; 54%).

30 Characteristics: TLC: CH₂Cl₂/Acetone: 92/8; $R_f = 0.61$

$[\alpha]_D^{20} = -74^\circ$ ($c = 1.1$; CHCl₃)

MS: m/z 857 (M + NH₄)⁺

m.p. = 175°C

C₄₅H₄₅NO₁₅M = 839

35

	C	H	N
--	---	---	---

Calculated 64.36 5.40 1.67

Found 64.21 5.30 1.58

Step 8

30 μl of triethylamine and then 150 mg of 10%

palladium on carbon are added to a solution of 9 (0.28 g; 0.33 mmol) in 20 ml of ethyl acetate. The reaction medium is placed under a hydrogen atmosphere (atmospheric pressure). After stirring for 1 h 30 min at room temperature, the catalyst is removed by filtration and the organic phase concentrated under reduced pressure and then chromatographed on a silica gel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 97/3 and then 95/5) to give 172 mg of the pure compound 10 (90%). (Recrystallization from $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{pentane}$).

10 Characteristics: TLC: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 95/5; $R_f = 0.31$
 $[\alpha]_D^{20} = -120^\circ$ ($c = 1.05$; CHCl_3)
MS: m/z 594 ($M + \text{Na}$)⁺ 610 ($M + \text{K}$)⁺
m.p. = 219°C
 $\text{C}_{29}\text{H}_{33}\text{NO}_{11}\text{M} = 571$

15	C	H	N	
	Calculated	60.94	5.82	2.45
	Found	60.45	5.78	2.58

15 ^1H NMR 300 MHz CDCl_3 δ 1.36 (3H, d, $J = 5\text{Hz}$, $\text{CH}_3\text{-CH}$); 1.51 (1H, m, $\text{H}_{2\text{-a}}$); 2.05 (1H, m, $\text{H}_{2\text{-e}}$); 2.88 (1H, m, H_3); 3.02 (2H, m, $\text{H}_{3\text{-}}$ and $\text{H}_{4\text{-}}$); 3.28 (1H, m, $J_{2\text{-}1} = 5.2\text{ Hz}$, H_2); 3.30 (1H, m, $\text{H}_{5\text{-}}$); 3.57 (1H, t, $J = 10\text{ Hz}$, $\text{H}_{6\text{-a}}$); 3.75 (6H, s, OCH_3); 4.15 (1H, dd, $J = 5\text{ Hz}$, $J = 10\text{ Hz}$, $\text{H}_{6\text{-e}}$); 4.41 (1H, dd, $J = 9\text{ Hz}$, $\text{H}_{11\text{a}}$); 4.21 (1H, t, $J = 9\text{ Hz}$, $\text{H}_{11\text{b}}$); 4.59 (1H, d, $J = 5.2\text{ Hz}$, H_1); 4.75 (1H, q, $J = 5\text{ Hz}$, $\text{H}_{7\text{-}}$); 4.85 (1H, dd, $J = 9\text{ Hz}$, $J = 2\text{ Hz}$, $\text{H}_{1\text{-}}$); 4.94 (1H, d, $J = 3.3\text{ Hz}$, H_4); 5.98 (1H, d, $\text{OCH}_\text{A}\text{O}$); 6.00 (1H, d, $\text{OCH}_\text{B}\text{O}$); 6.24 (2H, s, H_2 and $\text{H}_{6\text{-}}$); 6.55 (1H, s, H_8); 6.75 (1H, s, H_5).

Preparation of the hydrochloride

30 A solution of 0.098 M hydrochloric methanol (1.09 ml; 0.106 mmol) is added to the amine 10 (61 mg; 0.10 mmol) in solution in anhydrous dichloromethane (6 ml). The reaction medium is stirred for 10 minutes. The expected product is precipitated after addition of ether (20 ml). 56 mg (86%) of the hydrochloride of 10 are recovered.

Characteristics: m.p. = 230°C

$\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{NO}_{11}\text{ClM} = 606$

Test of solubility: 2.56 mg in 0.3 ml

of water
C = 0.014 M

EXAMPLE 2

General formula I ($\text{NR}_1\text{R}_2 = \beta\text{NMe}_2$; $\text{XY} = \text{OCH}(\text{CH}_3)\text{OCH}_2$)
5 4'-Demethyl-4-O(3-dimethylamino-2,3-dideoxy-4,6-
ethyleno- β -D-arabinohexopyranosyl)epipodophyllotoxin
(Compound 11)

Formaldehyde (13.5 μl) and sodium cyanoboro-hydride (85 mg) are added successively to a solution of
10 10 (0.19 g; 0.33 mmol) in anhydrous dichloromethane (15 ml). After stirring for 45 min at room temperature, these same reagents are added and the reaction is continued for 45 min. The reaction medium is diluted with CH_2Cl_2 (30 ml) and washed with water (40 ml). The organic
15 phase is dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue is chromatographed on a silica gel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 97/3). This gives 101 mg of 11 (51%).

Characteristics: TLC: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 95/5; $R_f = 0.4$

$[\alpha]_D^{20} = -121^\circ$ ($c = 1$; CHCl_3)

20 MS: m/z 600 ($\text{M} + \text{H}$)⁺

m.p. = 270°C

$\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{NO}_{11}\text{M} = 599$

^1H NMR 300 MHz CDCl_3 δ 1.38 (3H, d, $J = 5$ Hz, CH_3-CH); 1.55 (1H, m, H_{2-a}); 1.96 (1H, m, H_{2-a}); 1.96 (1H, m, H_{2-e}); 2.33 (3H, s, CH_3-N); 2.91 - 2.82 (1H, m, H_3); 2.91 - 2.82 (1H, m, H_3); 3.35 - 3.25 (1H, m, H_5); 3.38 (1H, t, $J_{4..5..} = 9$ Hz, $J_{4..3..} = 9$ Hz, H_4); 3.58 (1H, t, $J_{6..a..5..} = 10$ Hz, $J_{6..a..6..e} = 10$ Hz, H_{6-a}); 3.75 (3H, s, CH_3O); 4.16 (1H, dd, $J_{6..e..5..} = 5$ Hz, $J_{6..e..6..a} = 10$ Hz, H_{6-e}); 4.21 (1H, t, $J_{9b..9a} = 9$ Hz, $J_{9b..3} = 8$ Hz, H_{9b}); 4.42 (1H, dd, $J_{9a..9b} = 9$ Hz, $J_{9a..3} = 10.5$ Hz, H_{9a}); 4.59 (1H, d, $J_{1..2..} = 5.2$ Hz, H_1); 4.74 (1H, q, $J = 5$ Hz, $\text{CH}-\text{CH}_3$); 4.82 (1H, dd, $J_{1..2..a} = 9.5$ Hz, $J_{1..2..e} = 2$ Hz, H_1); 4.95 (1H, d, $J_{4..3..} = 3.2$ Hz, H_4); 5.97 (1H, d, OCH_3O); 6.00 (1H, d, OCH_3O); 6.25 (2H, s, H_2 and H_6); 6.55 (1H, s, H_8); 6.76 (1H, s, H_5).

Preparation of the hydrochloride

A solution of 0.098 M hydrochloric methanol (1.72 ml; 0.17 mmol) is added to the amine 11 (101 mg; 0.17 mmol) in solution in anhydrous dichloromethane

(7 ml). The reaction medium is stirred for 10 minutes. The expected product is precipitated after addition of ether (20 ml). 86 mg (81%) of the hydrochloride of 11 are recovered.

- 5 Characteristics: m.p. = 199°C
 $C_{31}H_{33}NO_{11}ClM = 635$
Test of solubility: 2.5 mg in 0.1 ml
of water
 $C = 0.038 M$

10 EXAMPLE 3

General formula I: $NR_1R_2 = \alpha\text{-NH}_2$; $XY = OCH(CH_3)OCH_2$
4'-Demethyl-4-O-(3-amino-2,3-dideoxy-4,6-ethylidene β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin (compound 19)

Step 1

- 15 Tert-butyldimethylsilyl-3-azido-2,3-dideoxy- β -D-ribohexo-pyranoside (compound 12)

In a manner similar to step 3 of Example 1, but using compound 4, compound 12 is obtained which is used directly in step 2.

20 Step 2

Tert-butyldimethylsilyl-3-azido-2,3-dideoxy-4,6-O-ethylidene- β -D-ribohexopyranoside (13)

- 25 1.1 ml (8 mmol) of acetaldehyde diethyl acetal and then 52 mg of camphorsulfonic acid (0.24 mmol) are added to a solution of 12 (0.25 g; 0.8 mmol) obtained in step 1 in 10 ml of acetonitrile. The reaction medium is stirred at room temperature for 9 h and then diluted with ethyl acetate (30 ml) before washing with a solution of sodium hydrogen carbonate (pH = 9) and then with water (30 ml). The organic phase is dried over $MgSO_4$ and then concentrated under reduced pressure to give 0.3 g of crude product. Purification on a silica gel (cyclohexane/AcOEt: 15/1) makes it possible to isolate 0.15 g of pure 13 (55%).

- 35 Characteristics: TLC: cyclohexane/AcOEt: 4/1; $R_f = 0.77$
 $[\alpha]_D^{20} = -35^\circ$ ($c = 1.1 CHCl_3$)
 $C_{14}H_{27}N_3O_4SiM = 329$

Step 3

- 4'-Benzylloxycarbonylepipodophyllotoxin 3-azido-2,3-

dideoxy-4,6-O-ethylidene- β -D-ribohexopyranoside (compound 14)

1st route of synthesis:

Trimethylsilyltrifluoromethanesulfonate (TMSOTf) (446 μ l; 2.46 mmol) is added to a mixture of DMEPT 4'-OZ (438 mg; 0.82 mmol), of 13 (270 mg; 0.82 mmol) obtained in step 2 and of molecular sieve 4 A (1.5 g) in anhydrous dichloromethane (30 ml) cooled to -40°C. After reacting for 1 h 15 min at -40°C, the reaction medium is neutralized with triethylamine (342 μ l), filtered and then washed with a saturated solution of NaCl (20 ml). The organic phase is dried over $MgSO_4$, concentrated under reduced pressure and then the crude residue is chromatographed on a silica gel (cyclohexane/AcOEt: 65/35) to give 14 (260 mg; 45%).

2nd route of synthesis:

Boron trifluoride etherate ($BF_3 \cdot Et_2O$) (425 μ l; 3.46 mmol) is added to a mixture of DMEPT 4' OZ (1.85 g; 3.46 mmol), of 13 (1.20 g; 3.64 mmol) obtained in step 2 in anhydrous dichloromethane (100 ml) cooled to -15°C. After reacting for 2 h at -15°C, the reaction medium is diluted with 100 ml of CH_2Cl_2 , and then poured into 200 ml of a saturated solution of $NaHCO_3$. The organic phase is dried over $MgSO_4$, concentrated under reduced pressure and then the crude residue (2.9 g) is chromatographed on silica gel (cyclohexane/AcOEt: 65/35) to give 14 (1.19 g; 47%) (recrystallization $Et_2O/hexane$).

Characteristics: TLC: cyclohexane/AcOEt: 6/4; $R_f = 0.41$
cyclohexane/AcOEt: 65/3; $R_f = 0.27$

[α]_D²⁰ = -105° (c = 1.05; $CHCl_3$)

MS: m/z 749 ($M + NH_4$)⁺

m.p. = 1.39°C

$C_{37}H_{53}N_3O_{13}M = 731$

Step 4

Epipodophyllotixin 3-amino-2,3-dideoxy-4,6-O-ethylidene- β -D-ribohexopyranoside 15

20 μ l of triethylamine and then 20 mg of 10% palladium on carbon are added to a solution of 14 (110 mg; 0.15 mmol) obtained in step 3 in a mixture of

10 ml of ethanol and 5 ml of ethyl acetate. The reaction medium is placed under a hydrogen atmosphere (atmospheric pressure). After stirring for 2 h at room temperature, the catalyst is removed by filtration and the organic
5 phase concentrated under reduced pressure and then chromatographed on a silica gel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 97/3 and then 95/5) to give 63 mg of pure 15 (72%).

Characteristics: TLC: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 95/5; $R_f = 0.39$
10 $[\alpha]_D^{20} = -100^\circ$ ($c = 1.05$; CHCl_3)
MS: m/z 572 ($M + 1$) 589 ($M + \text{NH}_4$)⁺
m.p. = 217°C
 $C_{29}\text{H}_{33}\text{NO}_{11}\text{M} = 571$

15 $^1\text{H-NMR}$ 300 MHz CDCl_3 δ : 1.35 (3H, d, $J = 5$ Hz, $\text{CH}_3\text{-CH}$);
3.22 (1H, dd, $J_{2-1} = 5.2$ Hz, $J_{2-3} = 14$ Hz, H_2); 3.42 (1H,
dd, $J_{4-3} = 9.5$ Hz, $J_{4-5} = 3.5$ Hz, H_4); 3.74 (6H, s,
 $O\text{CH}_3$); 3.49 - 3.60 (2H, m, H_3 and H_6); 3.94 - 4.02 (1H,
m, H_5); 4.10 - 4.20 (2H, m, H_6 and H_{11b}); 4.42 (1H, dd,
 $J_{11a-3} = 9$ Hz, $J_{11a-11b} = 9.5$ Hz, H_{11a}); 4.57 (1H, d, $J_{1-2} =$
20 5.2 Hz, H_1); 4.78 (1H, q, $J = 5$ Hz, H_7); 4.91 (1H, d,
 $J_{4-3} = 3.4$ Hz, H_4); 5.38 (1H, dd, $J_{1-2} = 2$ Hz, $J_{1-2a} =$
9 Hz, H_1); 5.93 (1H, s, $O\text{CH}_A\text{O}$); 5.97 (1H, s, $O\text{CH}_B\text{O}$); 6.25
(2H, s, H_2 and H_6); 6.51 (1H, s, H_8); 6.86 (1H, s, H_5).
Preparation of the hydrochloride

25 890 μl of a 0.098 M hydrochloric methanol solution (0.087 mmol) are added to the amine 15 (50 mg; 0.087 mmol) obtained in step 4. After stirring for 10 minutes and addition of ether (10 ml), the crystals of hydrochloride (52 mg, 98%) are obtained by filtration.

30 Characteristics: m.p. = 175°C

$C_{29}\text{H}_{34}\text{NO}_{11}\text{ClM} = 607$

Test of solubility: 2.2 mg in 0.2 ml of water

$C = 0.02$ M

35 EXAMPLE 4

General formula I: $\text{NR}_1\text{R}_2 = \alpha\text{-NMe}_2$; $\text{XY} = \text{OCH}(\text{CH}_3)\text{OCH}_2$
4'-Demethyl-4-O(3-N,N-dimethylamino-2,3-dideoxy-4,6-O-
ethylidene- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin 20

Formaldehyde (10.3 μl) and sodium cyanoboro-

hydride (12 mg) are added successively to a solution of 15 (29 mg: 0.05 mmol) obtained in step 4 of Example 3 in 1 ml of acetonitrile. After stirring for 2 h at room temperature, the reaction medium is diluted with CH_2Cl_2 5 (20 ml) and washed with water (20 ml). The organic phase is dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure. The residue is again added to the reaction under the same conditions and after an identical treatment chromatographed on a silica gel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 97/3).
10 This gives 29 mg of 20 (95%).

Characteristics: TLC: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 95/5; $R_f = 0.5$
 $[\alpha]_D^{20} = -85^\circ$ ($c = 1.06$; CHCl_3)
MS: m/z 600 ($M + H$)⁺
m.p. = 140°C
15 $C_{31}\text{H}_{37}\text{NO}_{11}\text{M} = 599$

^1H NMR 300 MHz CDCl_3 δ : 1.35 (3H, d, $J = 5$ Hz); 1.55 (1H, m, H_{2-a}); 2.20 (1H, m, H_{2-e}); 2.36 (3H, s, CH_3N); 2.62 (1H, m, 2.62, H_3); 2.85 (1H, m, H_3); 3.23 (1H, dd, $J_{2-1} = 5.2$ Hz, $J_{2-3} = 14$ Hz, H_2); 3.52 (1H, dd, $J_{4-3} = 3$ Hz, $J_{4-3} = 9$ Hz, H_4); 3.61 (1H, t, $J_{6-a-6-e} = 10$ Hz, $J_{6-a-5} = 10$ Hz, H_{6-a}); 3.75 (3H, s, CH_3O); 4.22 - 4.02 (1H, m, H_5); 4.22 - 4.02 (1H, m, H_{6-e}); 4.22 - 4.02 (1H, m, H_{9b}); 4.43 (1H, dd, $J_{9a-9b} = 9$ Hz, $J_{9b-3} = 10.5$ Hz, H_{9b}); 4.62 - 4.57 (1H, m, $J_{1-2} = 5.2$ Hz, H_1); 4.62 - 4.57 (3H, m, $J = 5$ Hz, $\text{CH}-\text{CH}_3$), 4.88 (1H, d, $J_{4-3} = 3.4$ Hz, H_4); 5.96 (1H, d, OCH_AO); 5.98 (1H, d, OCH_BO); 6.25 (2H, s, H_2 and H_6); 20 6.52 (1H, s, H_8); 6.80 (1H, s, H_5).
25

Preparation of the hydrochloride

A 0.098 M hydrochloric methanol solution is added 30 to the amine 20 (59 mg; 0.1 mmol) in solution in anhydrous methanol (2 ml) (1 ml; 0.1 mmol). The reaction medium is stirred for 10 minutes. The expected product is precipitated after addition of ether (20 ml). 33 mg (53%) of crystals are recovered.

35 Characteristics: m.p. = 150°C



Test of solubility: 2.6 mg in 0.1 ml of water

$C = 0.04$ M

EXAMPLE 5

General formula I: $\text{NR}_1\text{R}_2 = \alpha\text{-NHCH}_2\text{CN}$; $\text{XY} = \text{OCH}(\text{CH}_3)\text{OCH}_2$
4'-Demethyl-4-O-(3-cyanomethylamino-2,3-dideoxy-4,6-
ethylidene- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin
5 (Compound 16)

200 μl of triethylamine (1.47 mmol) and then
100 μl of iodoacetonitrile (1.47 mmol) are added to a
solution of 15 (120 mg; 0.21 mmol) obtained in step 4 of
10 Example 3 in 4 ml of dimethylformamide. The reaction
medium is stirred for 20 h at room temperature and then
diluted with ethyl acetate (30 ml) before washing with
15 water ($4 \times 30 \text{ ml}$). The organic phase is dried over MgSO_4 ,
concentrated under reduced pressure and then chromatographed
on a silica gel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{acetone}: 92/8$) to give
71 mg of pure 16 (55%).

Characteristics: TLC: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}: 95/5$; $R_f = 0.25$
 $[\alpha]_D^{20} = -86^\circ$ ($c = 0.80$; CHCl_3)
MS: m/z 611 ($\text{M} + \text{H}$)⁺ 628 ($\text{M} + \text{NH}_4$)⁺
 $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_{11}\text{M} = 610$

20 ^1H NMR 300 MHz CDCl_3 δ : 1.35 (3H, d, $J = 5\text{ Hz}$, CH_3CH); 1.69
(1H, m, $J_{2\text{-a-1}} = 9.5\text{ Hz}$, $J_{2\text{-a-2-e}} = 13\text{ Hz}$, $J_{2\text{-a-3}} = 3\text{ Hz}$,
 $\text{H}_{2\text{-a}}$); 1.93 (1H, m, $\text{H}_{2\text{-e}}$); 2.86 (1H, m, H_3); 3.25 (1H, dd,
 $J_{2\text{-1}} = 5.2\text{ Hz}$, $J_{2\text{-3}} = 14\text{ Hz}$, H_2); 3.51 - 3.56 (2H, m, H_4
and $\text{H}_{6\text{-a}}$); 3.56 (2H, m, CH_2CN); 3.76 (6H, s, OCH_3); 3.88
25 (1H, m, $\text{H}_{5\text{-}}$); 4.17 (2H, t, $J_{11\text{a-3}} = 8\text{ Hz}$, $J_{11\text{a-11b}} = 10\text{ Hz}$,
 H_3 . and $\text{H}_{11\text{b}}$); 4.14 (1H, dd, $J_{6\text{a-6-b}} = 10\text{ Hz}$, $J_{6\text{-b-5-}} = 5\text{ Hz}$,
 $\text{H}_{6\text{-b}}$); 4.41 (1H, dd, $J_{11\text{a-3}} = 9\text{ Hz}$, $J_{11\text{a-11b}} = 10\text{ Hz}$,
 $\text{H}_{11\text{a}}$); 4.60 (1H, d, $J_{1\text{-2}} = 5.3\text{ Hz}$, H_1); 4.75 (1H, q, $J = 5\text{ Hz}$,
 $\text{H}_{7\text{-}}$); 4.90 (1H, d, $J_{4\text{-3}} = 3.3\text{ Hz}$, H_4); 5.17 (1H, dd,
30 $J_{1\text{-2-c}} = 2\text{ Hz}$, $J_{1\text{-2-a}} = 9.5\text{ Hz}$, H_1 .); 5.99 (1H, s, $\text{OCH}_\text{A}\text{O}$);
6.00 (1H, s, $\text{OCH}_\text{B}\text{O}$); 6.25 (2H, s, H_2 and $\text{H}_{6\text{-}}$); 6.54 (1H,
s, H_8); 6.79 (1H, s, H_5).

EXAMPLE 6

General formula I: $\text{NR}_1\text{R}_2 = \alpha\text{-morpholino}$; $\text{XY} = \text{OCH}(\text{CH}_3)\text{OCH}_2$
35 4'-Demethyl-4-O-(3-N-morpholino-2,3-dideoxy-4,6-
ethylidene- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin
(Compound 17)

58 μl of triethylamine (0.42 mmol) and then
- 512 mg of diiodoethyl ether (1.57 mmol) are added to a

solution of 15 (60 mg; 0.10 mmol) obtained in step 4 of Example 3 in 2 ml of dimethylformamide. The reaction medium is stirred for 96 h at room temperature and in the dark and then diluted with ethyl acetate (30 ml) before 5 washing with water (4 × 30 ml). The organic phase is dried over MgSO₄, concentrated under reduced pressure and then chromatographed on a silica gel (CH₂Cl₂/acetone: 92/8) to give 46 mg of pure 17 (68%).

Characteristics: TLC: CH₂Cl₂/acetone: 92/8; R_f = 0.31
10 [α]_D²⁰ = -98° (c = 1.04; CHCl₃)
C₃₃H₃₉NO₁₂M = 641

¹H NMR 300 MHz CDCl₃ δ: 1.33 (3H, d, J = 5 Hz, CH₃CH); 1.55 (1H, m, J_{2-a-1} = 9.5 Hz, J_{2-a-2-e} = 13 Hz, J_{2-a-3} = 3 Hz, H_{2-a}); 2.15 (1H, m, H_{2-e}); 2.84-2.90 (5H, m, CH₂N and H₃); 15 2.80 (1H, dd, J₃₋₄ = 3 Hz, J_{3-2-a} = 3 Hz, J_{3-2-e} = 3 Hz, H₃); 3.23 (1H, dd, J₂₋₁ = 5.2 Hz, J₂₋₃ = 14 Hz, H₂); 3.48 (1H, t, J_{6-a-6-b} = 12 Hz, J_{6-a-5} = 12 Hz, H_{6-a}); 3.57 (1H, dd, J₃₋₄ = 3 Hz, J₄₋₅ = 9 Hz, H₄); 3.66-3.76 (10H, m, OCH₃ and OCH₂); 4.08-4.16 (2H, m, H₅ and H_{6-b}); 4.20 (1H, 20 t, J_{11a-3} = 8 Hz, J_{11a-11b} = 9 Hz, H_{11a}); 4.43 (1H, dd, J_{11b-3} = 9 Hz, J_{11b-11a} = 9 Hz, H_{11b}); 4.57-4.62 (2H, m, H₁ and H₇); 4.89 (1H, d, J₄₋₃ = 3.4 Hz, H₄); 5.20 (1H, dd, J_{1-2-e} = 2 Hz, J_{1-2-a} = 9.5 Hz, H₁); 5.97 (1H, s, OCH_AO); 6.00 (1H, s, OCH_BO); 6.25 (2H, s, H₂ and H₆); 6.54 (1H, 25 s, H₈); 6.73 (1H, s, H₅).

EXAMPLE 7

General formula I: NR₁R₂ = α-NH₂(CH₂)₂NH₂; XY = OCH(CH₃)OCH₂
4'-Demethyl-4-O[3-(2-Aminoethylamino)-2,3-dideoxy-4,6-
30 ethylidene-β-D-ribohexopyranosyl]epipodophyllotoxin 18

Triethylamine (127 μl; 0.91 mmol) and N-benzyl-oxycarbonyl-2-iodoethylamine (0.28 g; 0.91 mmol) are added to a solution of 15 (173 mg; 0.30 mmol) obtained in step 4 of Example 3 in 10 ml of dimethylformamide. The reaction medium is stirred for 5 days at room temperature and then diluted with water (30 ml). After extraction with ethyl acetate (30 ml), washing with water (5 × 20 ml), the organic phase is dried over MgSO₄, concentrated under reduced pressure and then chromato-

graphed on a silica gel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 97/3) to give 155 mg of pure 18 (68%).

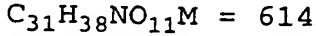
Characteristics: TLC: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 95/5; $R_f = 0.70$
[α]_D²⁰ = -74° (c = 1.17; CHCl_3)
5 MS: m/z 749 ($M + H$)⁺
 $C_{39}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_{13}\text{M} = 748$

which is used directly in the following debenzylation step:

10 Triethylamine (30 μl) and then 10% palladium on carbon (0.1 g) are added to a solution of 18 (0.15 g; 0.20 mmol) in a mixture of ethyl acetate and ethanol (10 ml, 1/1). The reaction medium is placed under a hydrogen atmosphere (atmospheric pressure).

15 After stirring for 1 h 30 min at room temperature in the presence of hydrogen at atmospheric pressure, the catalyst is removed by filtration and the organic phase concentrated under reduced pressure and chromatographed on a silica gel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}(\text{NH}_3)$: 97/3) to give 107 mg (84%) of 19.

20 Characteristics: TLC: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}(\text{NH}_3)$: 95/5; $R_f = 0.22$
[α]_D²⁰ = -77° (c = 1; CHCl_3)
m.p. = 130°C



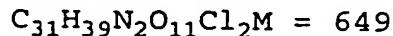
1^H NMR 300 MHz $\text{CDCl}_3\delta$: 1.33 (3H, d, $J = 5$ Hz); 1.55 (1H, m, H_{2-a}); 2.15 (1H, m, H_{2-e}); 2.33 (3H, m, NH_2 and NH, exchangeable); 2.84-2.90 (5H, m, CH_2-N and H_3); 3.20 (1H, dd, $J_{3*-4*} = 3$ Hz, $J_{3*-2*a} = 3$ Hz, $J_{3*-2*e} = 3$ Hz, H_{3*}); 3.23 (1H, dd, H_2); 3.48 (1H, t, $J_{6*a-6*b} = 12$ Hz, $J_{6*a-5*} = 12$ Hz, H_{6-a}); 3.57 (1H, dd, $J_{4*-3*} = 3$ Hz, $J_{4*-5*} = 9$ Hz, H_{4*}); 3.75 (6H, s, OCH_3); 4.08-4.16 (2H, m, H_{5*} and H_{6*b}); 4.20 (1H, t, $J_{11b-3} = 8$, $J_{11b-11a} = 9$ Hz, H_{11b}); 4.43 (1H, dd, $J_{11a-3} = 9$ Hz, $J_{11a-11b} = 9$ Hz, H_{11a}); 4.57-4.62 (2H, m, H_1 and H_{7*}); 4.89 (1H, d, $J_{4-3} = 3.4$ Hz, H_4); 5.20 (1H, dd, $J_{1*-2*e} = 2$ Hz, $J_{1*-2*a} = 9.5$ Hz, H_{1*}); 5.97 and 6.00 (2H, d, OCH_2O); 6.25 (2H, s, H_2 and H_{6*}); 6.54 (1H, s, H_8); 6.73 (1H, s, H_5).

Preparation of the hydrochloride

A 0.098 M hydrochloric methanol solution - (2.13 ml; 0.21 mmol) is added to the diamine 19 (64 mg;

0.10 mmol) in solution in anhydrous methanol (3 ml). The reaction medium is stirred for 10 minutes. The expected product is precipitated after addition of ether (20 ml). 50 mg (73%) of the hydrochloride are recovered.

5 Characteristics: m.p. = 170°C



Test of solubility: 2.0 mg in 0.05 ml
of water

C = 0.06 M

10 EXAMPLE 8

General formula I: $NR_1R_2 = \alpha\text{-NH}_2$; X = OH; Y = CH₃,
4'-Demethyl-4-O(3-amino-2,3,6-trideoxy β -D-ribohexo-pyranosyl)epipodophyllotoxin (compound 26)

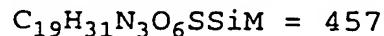
Step 1

15 Tert-butyldimethylsilyl-3-azido-2,3-dideoxy-6-O-tosyl- β -D-ribohexopyranoside 21

A solution of tosyl chloride (1.55 g; 8.15 mmol) in pyridine (10 ml) is added dropwise to a solution of the diol 12 (2.06 g; 6.79 mmol) obtained in step 1 of
20 Example 3 previously cooled to 0°C. After stirring at the same temperature for 1 h and then for 18 h at 20°C, the reaction medium is diluted with dichloromethane (100 ml). The organic phase is washed with water (2 × 100 ml), dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure.
25 The residue is purified on a silica gel (cyclohexane/-EtOAc: 8/2). This gives 2.02 g of 21 (65%).

Characteristics: TLC: cyclohexane/AcOEt: 2/1; R_f = 0.46

MS: m/z 475 (M + H)⁺



30 Step 2

Tert-butyldimethylsilyl-3-azido-6-iodo-2,3,6-trideoxy- β -D-ribohexopyranoside 22

The compound 21 (2.02 g; 4.42 mmol) obtained in step 1 in solution in 120 ml of acetone is heated under reflux for 72 h in the presence of sodium iodide (2.65 g; 17.68 mmol). After cooling, the reaction medium is concentrated under reduced pressure (30 ml) and then diluted with dichloromethane (100 ml). After washing with a 10% aqueous solution of sodium thiosulfate and then

drying over $MgSO_4$ and evaporating under reduced pressure, a residue is obtained which is purified on silica (cyclohexane/EtOAc: 8/2) giving 1.5 g (82%) of 22.

Characteristics: $[\alpha]_D^{20} = -30^\circ$ ($c = 1.06$, $CHCl_3$)

5	MS: m/z 431 ($M + NH_4$) ⁺
	$C_{12}H_{24}N_3O_3ISiM = 413$
	C H N
	Calculated 34.87 5.81 10.17
	Found 35.07 5.76 10.25

10 Step 3

Tert-butyldimethylsilyl-3-azido-6-iodo-4-O-chloroacetyl-2,3,6-trideoxy- β -D-ribohexopyranoside (compound 23)

Chloroacetyl chloride (396 ml; 5 mmol) is added to a solution of 22 (1.03 g; 2.5 mmol) obtained in the preceding step in a mixture of dichloromethane (20 ml) and pyridine (404 μ l; 5 mmol). After stirring for 1 h at $-10^\circ C$, the reaction medium is diluted with CH_2Cl_2 (30 ml) and washed with water (3×20 ml). A customary treatment, followed by chromatography on silica (cyclohexane/EtOAc: 10/1) gives 1.1 g (90%) of compound 23.

Characteristics: $[\alpha]_D^{20} = -14^\circ$ ($c = 1.03$, $CHCl_3$)

MS: m/z 507 ($M + NH_4$)⁺

$C_{14}H_{25}N_3O_4ClSiM = 489$

	25	Calculated 34.35 5.11 8.59
		Found 34.69 5.16 8.22

Step 4

4'-Demethyl-4-O(3-azido-6-iodo-2,3,6-trideoxy- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin (compound 24)

30 Boron trifluoride etherate ($BF_3 \cdot Et_2O$) (455 μ l; 3.7 mmol) is added to a mixture of DMEPT 4'-OZ (1 g; 1.85 mmol), of 23 (1 g; 2.04 mmol) from the preceding step in anhydrous dichloromethane (100 ml) cooled to $-15^\circ C$. After reacting for 5 h ($-15^\circ C \rightarrow 0^\circ C$), the reaction medium is diluted with CH_2Cl_2 (100 ml) and then poured into a saturated $NaHCO_3$ solution (200 ml). The organic phase is dried over $MgSO_4$, concentrated under reduced pressure. The crude residue is chromatographed on a silica gel (cyclohexane/AcOEt: 7/3) to give 24 (0.8 g;

48%).

Characteristics: TLC: cyclohexane/AcOEt: 1/1; R_f = 0.58
[α]_D²⁰ = -85° (c = 1.26; CHCl₃)
MS: m/z 909 (M + NH₄)⁺
m.p. = 143°C
 $C_{37}H_{35}N_3O_{13}ClIM$ = 891

5

Step 5

4'-Demethyl-4-O(3-Azido-6-iodo-2,3,6-trideoxy- β -D-ribopyranosyl)4'-benzyloxycarbonylepipodophyllotoxin
10 (compound 25)

OH⁻ resin (Amberlite IRA 410) is added to a solution of the azidoglycoside 24 (257 mg; 0.29 mmol) in a CH₂Cl₂/MeOH mixture (15 ml, 2/1). After reacting for 3 h at 20°C, the reaction medium is filtered and then 15 concentrated under reduced pressure to give 0.22 g of pure 25 (94%).

Characteristics: TLC: cyclohexane/AcOEt: 1/1; R_f = 0.46
[α]_D²⁰ = -57° (c = 1.02; CHCl₃)
MS: m/z 833 (M + NH₄)⁺
20 m.p. = 115°C
 $C_{35}H_{34}N_3O_{12}IM$ = 815

20

Step 6

4'-Demethyl-4-O(3-amino-2,3,6-trideoxy- β -D-ribopyranosyl)epipodophyllotoxin (compound 26)

25 Triethylamine (100 μ l) and then 10% palladium on carbon (0.2 g) are added to a solution of 25 (0.20 g; 0.25 mmol) from the preceding step in 10 ml of ethyl acetate. After stirring for 30 h at room temperature in the presence of hydrogen at atmospheric pressure, the 30 catalyst is removed by filtration and the organic phase concentrated under reduced pressure and then chromatographed on a silica gel (CH₂Cl₂/MeOH: 92/8) to give 50 mg (38%) of 26.

35

Characteristics: TLC: CH₂Cl₂/MeOH: 90/10; R_f = 0.33
[α]_D²⁰ = -90° (c = 0.5; CHCl₃)
MS: m/z 530 (M + H)⁺
m.p. = 140°C
 $C_{27}H_{31}NO_{10}M$ = 529

Preparation of the hydrochloride

A 0.098 M hydrochloric methanol solution (1.44 ml; 0.14 mmol) is added to the preceding amine 26 (70 mg; 0.14 mmol) in solution in anhydrous methanol 5 (6 ml). The reaction medium is stirred for 10 minutes. The expected product is precipitated after addition of ether (20 ml). 40 mg (53%) of the crystallized hydrochloride are recovered.

Characteristics: m.p. = 164°C

10 $C_{27}H_{32}NO_{10}ClM = 565$

Test of solubility: 2.6 mg in 0.2 ml
of water

C = 0.02 M

EXAMPLE 9

15 General formula I: $NR_1R_2 = \alpha\text{-NH}_2$; X = OH; Y = CH_2NH_2
4'-Demethyl-4-O-(3,6-diamino-2,3,6-trideoxy- β -D-ribohexo-pyranosyl)epipodophyllotixin (compound 29)

Step 1

20 4'-Demethyl-4'-benzyloxycarbonyl-4-O(3,6-diazido-4-azidoacetyl-2,3,6-trideoxy- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin (compound 27)

Sodium azide (0.1 g; 1.5 mmol) is added to a solution of 24 (0.45 g; 0.51 mmol) obtained in step 4 of Example 8 in 10 ml of dimethylformamide. The reaction 25 medium is stirred for 64 h at room temperature, diluted with water (30 ml) and ethyl acetate (30 ml). The organic phase is washed with water (4 × 20 ml), dried over $MgSO_4$, concentrated under reduced pressure and chromatographed on silica gel (cyclohexane/AcOEt: 7/3) to give 0.36 g of 30 27 (90%).

Characteristics: TLC: cyclohexane/AcOEt: 6/4; $R_f = 0.44$
 $[\alpha]_D^{20} = -64^\circ$ ($c = 1$; $CHCl_3$)
MS: m/z 831 ($M + NH_4$)⁺
m.p. = 120°C

35 $C_{37}H_{35}N_9O_{13}M = 813$

Step 2

4'-Demethyl-4'-benzyloxycarbonyl-4-O(3,6-diazido-2,3,6-trideoxy- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin - (compound 28)

OH⁻ resin (Amberlite IRA 410) is added to a solution of the azidoglycoside 27 (70 mg; 0.08 mmol) in 3 ml of a CH₂Cl₂/MeOH mixture (2/1, v/v). After reacting for 5 h at 20°C, the reaction medium is filtered and then 5 concentrated under reduced pressure to give 59 mg of pure 28 (94%).

Characteristics: TLC: cyclohexane/AcOEt: 6/4; R_f = 0.25
[α]_D²⁰ = -53° (c = 1.04; CHCl₃)
m.p. = 125°C
10 C₃₅H₃₄N₆O₁₂IM = 730

Step 3

4'-Demethyl-4-O(3,6-diamino-2,3,6-trideoxy-β-D-ribohexo-pyranosyl)epipodophyllotoxin (compound 29)

Triethylamine (20 µl) and then 10% palladium on 15 carbon (70 mg) are added to a solution of 28 (0.11 g; 0.15 mmol) from the preceding step, in a mixture of ethyl acetate and ethanol (10 ml, 1/1). After stirring for 16 h at room temperature in the presence of hydrogen at atmospheric pressure, the catalyst is removed by filtration and the organic phase concentrated under reduced 20 pressure to give 78 mg (95%) of 29.

Characteristics: TLC: CH₂Cl₂/MeOH(NH₃): 90/10;
R_f = 0.06
C₂₇H₃₂N₂O₁₀M = 544

25 Preparation of the dihydrochloride

A 0.098 M hydrochloric methanol solution (2.92 ml; 0.28 mmol) is added to the preceding diamine 29 (78 mg; 0.14 mmol) in solution in anhydrous methanol (2 ml). The reaction medium is stirred for 10 minutes. 30 The expected product is precipitated after addition of ether (20 ml). 70 mg (79%) of crystallized dihydrochloride are recovered.

Characteristics: m.p. = 95°C

35 C₂₇H₃₄N₂O₁₀Cl₂M = 616
Test of solubility: 2.1 mg in 0.05 ml
of water
C = 0.07 M

Biological experiment

The molecules were tested using a biological

experiment and showed their usefulness as anticancer agent in tests for leukemia P 388 in vivo in mice. This test is commonly used in the field of research on anticancer substances (Protocols for screening chemical agents and natural products against animal tumors and other biological systems, R. Geran, N.H. Greenberg, M.M. MacDonald, A.M. Schumacher and B.J. Abbott, Cancer Chemotherapy reports 1972, 3, No. 2).

However, this experimental model is extremely chemosensitive and a very large number of compounds manifest good activity, which makes this test poorly discriminatory.

We modified the test protocol to make it more selective. The tumor cells are administered by the intravenous route and not by the intraperitoneal route. They are thus rapidly distributed by the circulation in the whole body. The test product is then administered by the intraperitoneal route. Two parameters are defined in order to demonstrate the activity of the compounds:

- 20 • determination of the median effective dose (ED_{50}) which represents the minimum single dose of the compound to be administered in order to obtain a significant survival of the animals compared with the untreated control animals;
- 25 • determination of the maximum survival time of the animals regardless of the dose administered by a single injection. Being able to administer a large dose of the compound and to observe a high survival makes it possible to obtain a measurement of the maximum therapeutic efficacy of the product which can be achieved.

Origin of the tumor

The leukemia P 388 was chemically induced in 1955 with 3-methylcholanthrene in a DBA/2 mouse (Am. J. Pathol. 33, 603, 1957).

Pharmacological procedure

The tumors are maintained by weekly passages in aseptic form in the peritonum of a DBA/2 mouse (original line) and the experiments are carried out on CDF₁ hybrid

female mice (bal b/c females XDBA/2 males) of 20 ± 2 g (Cancer chemother. Rep. 3, 9, 1972). The tumor cells are implanted by the intravenous route (106 cells per mouse) on day 0. The animals are randomized and distributed in 5 groups of 2 for each series.

The antitumor substances are administered intra-peritoneally (ip) one day after the inoculation of the leukemic cells (acute treatment). The solutions are injected in an amount of 10 ml/kg of mouse. The criterion 10 for evaluation of the antitumor activity is the extension of the survival of the treated animals. 86% of the mice die on the 7th day after the tumor transplant. A substance will be considered to be active if it induces a survival greater than 8 days.

15 The following table makes it possible to show the aqueous solubility of the products of the invention, expressed in mg/ml, the activity of these compounds in terms of ED₅₀, the survival expressed in days or in T/C %, which represents the ratio of the mean survival of 20 the group of treated animals to the mean survival of the group of control animals.

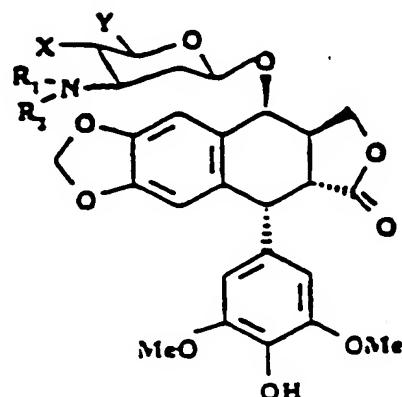
	Aqueous solubility mg/ml	P 388 ED ₅₀ (mg/kg)	Maximum survival (D)	T/C %
Control animals with iv administration of the tumor cells			6-8 (median 7)	
Compounds				
Etoposide	0.01	10	19	271
Teniposide	< 0.01	20	15	214
15	13	10	21	300
11	25	10	17	242
30 10	7	10	14	200
20	25	20	18	257

It thus appears that the compounds of the invention retained the level of activity of the reference compounds such as Etoposide and have, in addition, the

advantage of having an advantageous aqueous solubility
for formulation and administration.

CLAIMS

1. A compound of general formula I



in which the group in 3" N(R₁ R₂) is in the β-position (2-deoxy D Arabino series) or α-position (2-deoxy D ribo series) in relation to the ring, R₁ and R₂ which are identical or different, represent a hydrogen atom, a C₁ to C₆ alkyl group, capable of forming a ring, it being possible for this ring to contain a heteroatom such as oxygen or nitrogen, a C₁ to C₆ aminoalkyl group or a cyanomethyl group,

X and Y may be identical or different and represent OH, CH₃, CH₂-NH₂, X and Y may also be linked and may constitute a ring, such as for example a 2-methyl-1,3-dioxane, thus forming a bicyclic glycoside backbone of the 4,6-ethylidene-3-amino-2,3-dideoxyglycoside type, and its addition salts with pharmaceutically acceptable inorganic or organic acids.

2. A compound of general formula I according to Claim 1, characterized in that the group NR₁R₂ is an NH₂ or N(CH₃)₂ group.

3. A compound of general formula I according to Claim 1, characterized in that the group NR₁R₂ represents an amino group substituted once or twice with a methyl, CH₂CN or a CH₂-CH₂-NH₂.

25 4. A compound of the general formula I of Claims 1 - to 3, characterized in that X and Y form a ring with a

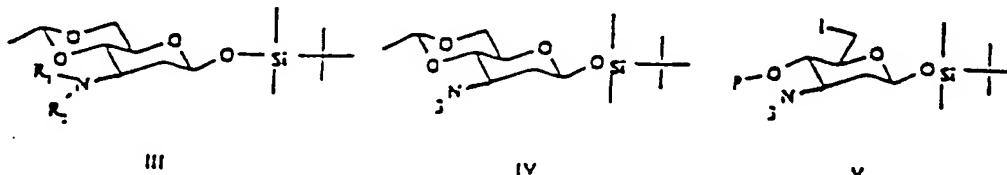
linkage $\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{OCH}_2$.

5. A compound of general formula I according to one of Claims 1 to 4, characterized in that it is chosen from the following compounds:

- 5 • 4'-demethyl-4-O(3-amino-4,6-ethylidene-2,3-dideoxy- β -D-arabinohexopyranosyl)epipodophyllotoxin,
- 4'-demethyl-4-O(3-amino-4,6-ethylidene-2,3-dideoxy- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin,
- 4'-demethyl-4-O(3-dimethylamino-4,6-ethylidene-2,3-dideoxy- β -D-arabinohexopyranosyl)epipodophyllotoxin,
- 10 • 4'-demethyl-4-O(3-dimethylamino-4,6-ethylidene-2,3-dideoxy- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin,
- 4'-demethyl-4-O(3-cyanomethylamino-4,6-ethylidene-2,3-dideoxy- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin,
- 15 • 4'-demethyl-4-O(3-(N-morpholino)-4,6-ethylidene-2,3-dideoxy- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin,
- 4'-demethyl-4-O[3(2-aminoethylamino)-4,6-ethylidene-2,3-dideoxy- β -D-ribohexopyranosyl]epipodophyllotoxin,
- 20 • 4'-demethyl-4-O(3-amino-2,3,6-trideoxy- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin,
- 4'-demethyl-4-O(3,6-diamino-2,3,6-trideoxy- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin.

25 6. Compounds according to Claim 4, characterized in that they are provided in the form of hydrochlorides.

7. Method of preparing a compound of general formula I according to Claims 1 to 4, characterized in that a compound of formula III or IV or V



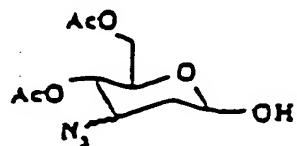
30 is reacted with 4'-Demethyl-4'-benzyloxycarbonylepipodophyllotoxin with BF_3 etherate, or trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate in an inert solvent at low temperature;

in formula III and IV, the substituent at the 3-position may be α or β , NR_1R_2 may be an amino protected with a group Z,

5 in formula V, P represents an alcohol-protecting group and the resulting products of this condensation are deprotected and hydrogenated to give the compounds of formula I,

the primary amines in the 3-position of the glycosyl are methylated with formalin and sodium cyanoborohydride.

10 8. Method of preparing a compound of formula IV, characterized in that a mixture of diacetoxyazido-glycoside VI



15 with tert-butyldimethylsilyl chloride in the presence of imidazole, in that the products resulting from this reaction are separated, in that each of these products are deacetylated, cyclized to 4,6-ethylidene with the acetal of acetaldehyde in a catalytic acid medium.

9. As a drug, the compounds of formula I according to Claims 1 to 6.

20 10. The pharmaceutical compositions characterized in that they contain at least one compound of formula I according to one of Claims 1 to 6 and an appropriate excipient.

25 11. Use of a compound of formula I, according to one of Claims 1 to 4, for the preparation of a drug for anticancer treatment and, in particular, for treating the forms of cancer such as, for example, small cell lung cancer, cancer of the testicles, embryonic tumors, neuroblastomas, cancer of the kidney, placental chorio-carcinomas, mammary adenocarcinomas, colorectal cancers, melanomas, Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas, and acute leukemias.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Application No. :

U.S. National Serial No. :

Filed :

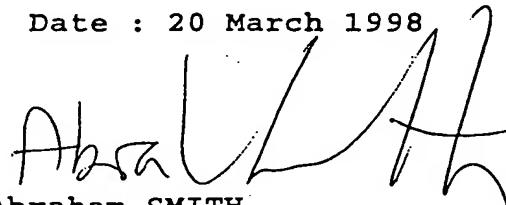
PCT International Application No. : PCT/FR96/01588

VERIFICATION OF A TRANSLATION

I, the below named translator, hereby declare that :
My name and post office address are as stated below ;
That I am knowledgeable in the French language in which the
below identified international application was filed, and that,
to the best of my knowledge and belief, the English translation
of the amended sheets of the international application No.
PCT/FR96/01588 is a true and complete translation of the amended
sheets of the above identified international application as
filed.

I hereby declare that all the statements made herein of my own
knowledge are true and that all statements made on information
and belief are believed to be true; and further that these
statements were made with the knowledge that wilful false
statements and the like so made are punishable by fine or
imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the
United States Code and that such wilful false statements may
jeopardize the validity of the patent application issued
thereon.

Date : 20 March 1998



Full name of the translator : Abraham SMITH

For and on behalf of RWS Translations Ltd.

Post Office Address :

Europa House, Marsham Way,
Gerrards Cross, Buckinghamshire,
England.

5 4.10 (1H, dd, $J_{6-5} = 2.5$ Hz, H_6) ;
4.20 (1H, dd, $J_{6-5} = 6$ Hz, $J_{6-6} = 12$ Hz, H_6) ; 4.86 (1H, t, J = 9.5 Hz, H_4) ; 4.86 (1H, dd, $J_{1-2a} = 9.5$ Hz, $J_{1-2e} = 1.5$ Hz, H_1) .

Derivative 4: 0.1 (6H, s, Si(CH₃)₂) ; 0.88 (9H, s, tBu) ; 1.64 (1H, ddd, $J_{2a-2e} = 14$ Hz, $J_{2a-1} = 8.5$ Hz, $J_{2a-3} = 3.5$ Hz, H_{2a}) ; 2.03 (1H, ddd, $J_{2e-2a} = 14$ Hz, $J_{2e-1} = 2$ Hz, $J_{2e-3} = 4$ Hz, H_{2e}) ; 2.05 (3H, s, COCH₃) ; 2.13 (3H, s, COCH₃) ; 4.05 - 4.12 (1H, m, H_5) ; 4.17 - 4.22 (3H, m, H_3 , H_6 and H_6) ; 4.89 (1H, dd, $J_{4-5} = 9.5$ Hz, $J_{4-3} = 3.5$ Hz, H_4) ; 5.02 (1H, dd, $J_{1-2a} = 8.5$ Hz, $J_{1-2e} = 2$ Hz, H_1) .

Step 3

20 Tert-butyldimethylsilyl-3-azido-2,3-dideoxy- β -D-arabino-hexopyranoside 5

A solution of 1 M sodium methoxide (1.9 ml) is added, under argon, to a solution of the derivative 3 (3 g; 7.7 mmol) obtained in step 2 in anhydrous methanol (40 ml). After reacting for 1 h 30 min at 20°C, the reaction medium is adjusted to pH = 7 by addition of H⁺ reside (AmberliteTM IRC 50 S). The reaction mixture is filtered and the filtrate concentrated under reduced pressure, giving 2.27 g of 5 (97%).

30 Characteristics: TLC: cyclohexane/AcOEt: 2/1; R_f = 0.36
[α]_D²⁰ = -26° (c = 1; CHCl₃)
MS: m/z 304 (M + H)⁺ 321 (M + NH₄)⁺
m.p. = 70-72°C
C₁₂H₂₅N₃O₄SiM = 303

35 Step 4

Tert-butyldimethylsilyl-3-azido-2,3-dideoxy-4,6-O-ethylidene- β -D-arabinohexopyranoside (6)

0.94 ml (6.6 mmol) of acetaldehyde diethyl acetal

Step 4

Tert-butyldimethylsilyl-3-azido-2,3-dideoxy-4,6-O-ethylidene- β -D-arabinohexopyranoside (6)

0.94 ml (6.6 mmol) of acetaldehyde diethyl acetal
5 and then 15 mg of para-toluenesulfonic acid (0.08 mmol)
are added to a solution of 5 (0.20 g; 0.6 mmol) obtained
in step 3 in 5 ml of acetonitrile. The reaction medium is

Characteristics: $[\alpha]_D^{20} = -14^\circ$ ($c = 1.03$, CHCl_3)

MS: m/z 507 ($M + \text{NH}_4$)⁺

$\text{C}_{14}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_4\text{ClISiM} = 489$

		C	H	N
5	Calculated	34.35	5.11	8.59
	Found	34.69	5.16	8.22

Step 4

4'-Demethyl-4-O(3-azido-6-iodo-2,3,6-trideoxy- β -D-ribopyranosyl)epipodophyllotoxin (compound 24)

10 Boron trifluoride etherate ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) (455 μl ; 3.7 mmol) is added to a mixture of DMEPT 4'-OZ (1 g; 1.85 mmol), of 23 (1 g; 2.04 mmol) from the preceding step in anhydrous dichloromethane (100 ml) cooled to -15°C. After reacting for 5 h (-15°C → 0°C), the reaction medium is diluted with CH_2Cl_2 (100 ml) and then poured into a saturated NaHCO_3 solution (200 ml). The organic phase is dried over MgSO_4 , concentrated under reduced pressure. The crude residue is chromatographed on silica gel (cyclohexane/AcOEt: 7/3) to give 24 (0.8 g; 48%).

15 20 Characteristics: TLC: cyclohexane/AcOEt: 1/1; $R_f = 0.58$
 $[\alpha]_D^{20} = -85^\circ$ ($c = 1.26$; CHCl_3)
MS: m/z 909 ($M + \text{NH}_4$)⁺
m.p. = 143°C
 $\text{C}_{37}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_{13}\text{ClIM} = 891$

25 Step 5

4'-Demethyl-4-O(3-azido-6-iodo-2,3,6-trideoxy- β -D-ribopyranosyl)4'-benzyloxycarbonylepipodophyllotoxin (compound 25)

30 OH⁻ resin (AmberliteTM IRA 410) is added to a solution of the azidoglycoside 24 (257 mg; 0.29 mmol) in a $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ mixture (15 ml, 2/1). After reacting for 3 h at 20°C, the reaction medium is filtered and then concentrated under reduced pressure to give 0.22 g of pure 25 (94%).

35 Characteristics: TLC: cyclohexane/AcOEt: 1/1; $R_f = 0.46$
 $[\alpha]_D^{20} = -57^\circ$ ($c = 1.02$; CHCl_3)

Step 1

4'-Demethyl-4'-benzyloxycarbonyl-4-O-(3,6-diazido-4-azidoacetyl-2,3,6-trideoxy- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin (compound 27)

5 Sodium azide (0.1 g; 1.5 mmol) is added to a solution of 24 (0.45 g; 0.51 mmol) obtained in step 4 of Example 8 in 10 ml of dimethylformamide. The reaction medium is stirred for 64 h at room temperature, diluted with water (30 ml) and ethyl acetate (30 ml). The organic 10 phase is washed with water (4 \times 20 ml), dried over MgSO₄, concentrated under reduced pressure and chromatographed on a silica gel (cyclohexane/AcOEt: 7/3) to give 0.36 g of 27 (90%).

Characteristics: TLC: cyclohexane/AcOEt: 6/4; R_f = 0.44
15 $[\alpha]_D^{20} = -64^\circ$ (c = 1; CHCl₃)
 MS: m/z 831 (M + NH₄)⁺
 m.p. = 120°C
 C₃₇H₃₅N₉O₁₃M = 813

Step 2

20 4'-Demethyl-4'-benzyloxycarbonyl-4-O-(3,6-diazido-2,3,6-trideoxy- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin (compound 28)

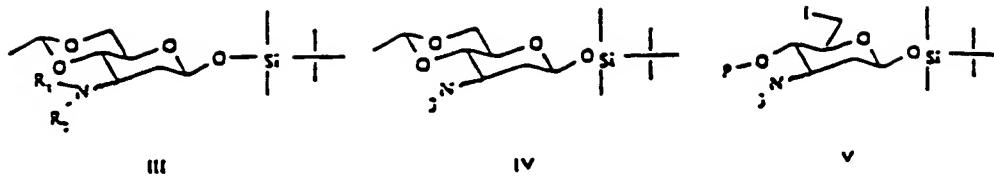
25 OH⁻ resin (AmberliteTM IRA 410) is added to a solution of the azidoglycoside 27 (70 mg; 0.08 mmol) in 3 ml of a CH₂Cl₂/MeOH mixture (2/1, v/v). After reacting for 5 h at 20°C, the reaction medium is filtered and then concentrated under reduced pressure to give 59 mg of pure 28 (94%).

Characteristics: TLC: cyclohexane/AcOEt: 6/4; R_f = 0.25
30 $[\alpha]_D^{20} = -53^\circ$ (c = 1.04; CHCl₃)
 m.p. = 125°C
 C₃₅H₃₄N₆O₁₂IM = 730

Step 3

35 4'-Demethyl-4-O-(3,6-diamino-2,3,6-trideoxy- β -D-ribohexopyranosyl)epipodophyllotoxin (compound 29)

Triethylamine (20 μ l) and then 10% palladium on carbon (70 mg) are added to a solution of 28 (0.11 g; 0.15 mmol) from the preceding step, in a mixture of ethyl



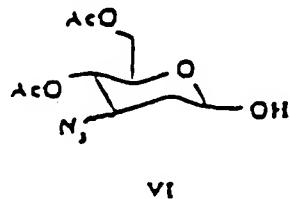
is reacted with 4'-Demethyl-4'-benzyloxycarbonylepipodophyllotoxin with BF_3 etherate, or trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate in an inert solvent at low temperature;

5 in formula III and IV, the substituent at the 3-position may be α or β , NR_1R_2 may be an amino protected with a group Z,

10 in formula V, P represents an alcohol-protecting group and the resulting products of this condensation are deprotected and hydrogenated to give the compounds of formula I,

the primary amines in the 3-position of the glycosyl are methylated with formalin and sodium cyanoborohydride.

8. Method of preparing a compound of formula I
15 according to Claim 7, characterized in that the compound of formula IV is prepared by reacting a diacetoxyazido-glycoside VI,



20 with tert-butyldimethylsilyl chloride in the presence of imidazole, in that the products resulting from this reaction are separated, in that each of these products are deacetylated, cyclized to 4,6-ethylidene with the acetal of acetaldehyde in a catalytic acid medium.

9. As a drug, the compounds of formula I according to Claims 1 to 6.

10. The pharmaceutical compositions characterized in that they contain at least one compound of formula I according to one of Claims 1 to 6 and an appropriate excipient.
- 5 11. Use of a compound of formula I, according to one of Claims 1 to 4, for the preparation of a drug for treating cancer and, in particular, for treating forms of cancer such as, for example, small cell lung cancer, cancer of the testicles, embryonic tumors, neuroblastomas, cancer of the kidney, placental choriocarcinomas, mammary adenocarcinomas, colorectal cancers, melanomas, Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas, and acute leukemias.
- 10

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)